Studien über Lactobacillus fermentum (Beijerinck).

Von **Jan Smit.**

(Aus dem Institut für Mikrobiologie der Technischen Hochschule in Delft.)

Über diese Bakterienart hat der Entdecker, Prof. Beijerinck-Delft, eine einzige Mitteilung publiziert, nämlich in seiner Abhandlung „Sur les ferments lactiques de l'industrie"[1]), in welcher er eine damals vollständige Übersicht über die Kenntnis der Arten von Milchsäurebakterien aus den Maischen der Brennereien und Hefefabriken gibt. Es gehören die daraus isolierten Formen ausnahmslos zu einer großen Gruppe, welche von Beijerinck die Gruppe der „aktiven Milchsäurebazillen" (ferments lactiques actifs) genannt worden ist. Diese Benennung, und die Aufstellung von sog. „physiologischen Bakteriengruppen", ist schon von vielen Systematikern verurteilt worden[2]), während aber später von mehreren andern (z. B. von Löhnis in seinem 1910 erschienenen Handbuch der landwirtsch. Bakteriologie) die Zusammenfügung und Benennung dieser verwandten Arten als zweckmäßig anerkannt worden ist. Der Grund für die Ablehnung dieses Vorschlags scheint mir darin zu liegen, daß unter den betreffenden Forschern eine weniger richtige Auffassung von dem Begriff der „Milchsäurebakterien" herrscht. Es werden nämlich von manchen unter ihnen alle diejenigen Bakterienarten dieser Gruppe eingereiht, unter deren Gärungsprodukten wohl einmal Milchsäure gefunden worden ist, wenn auch nur wenige Prozente des vergorenen Zuckers. Es leuchtet ein, daß man auf diese Weise gezwungen wird, so zahlreiche Bakterienarten ohne jegliche Ver-

[1]) Arch. Néerland. des sciences exactes et naturelles, Série II, T. VI, 1901, S. 212, übersetzt von W. Henneberg, Z. f. Spiritusindustrie 1902, S. 531.

[2]) Siehe z. B. Lehmann und Neumann, Bakteriologie II, S. 149, und Kruse, Allgemeine Microbiologie S. 285.

wandtschaft in diese Gruppe einzureihen, daß ein Kollektivname, wie Laktobazillen, in der Tat Unsinn wäre (nach den kürzlich erschienenen Untersuchungen von Osterwalder[1]) bilden auch die Essigbakterien geringe Mengen Milchsäure; man müßte also auch diese Arten der Milchsäurebakteriengruppe einverleiben!). Aber auch das Zusammenziehen und gruppenweise Systematisieren dieser „Milchsäurebildner“, wie es Kruse[2]) und früher auch Löhnis[3]) taten, hat nicht den geringsten systematischen Wert: man könnte ebensogut alle diejenigen Bakterienarten zusammenstellen, unter deren Gärungsprodukten Kohlensäure aufgefunden worden ist, und ihnen den Namen „Kohlensäurebakterien“ geben. Aber wohl niemand würde einem solchen Vorschlag beistimmen. Daß aber zwischen einer größeren Anzahl Milchsäure bildender Arten eine engere biologische Verwandtschaft besteht, ist allbekannt und hat eben zu dem Namen der Milchsäurebakterien geführt. Es erscheint aber als unzulässig, andere Milchsäurebildner in diese Gruppe hineinziehen zu wollen, welche mit den Beijerinckschen „aktiven Milchsäurefermenten“ ziemlich vollständig identisch ist. Schon in der obengenannten Abhandlung und später noch einmal[4]) hat er die Eigenschaften dieser interessanten Gruppe klar auseinandergesetzt. Kurz gefaßt sind es folgende: mehr oder weniger mikro-aërophile, sporenfreie Organismen, welche zu ihrer Ernährung gewisse Kohlehydrate und peptonisiertes Eiweiß brauchen und daraus entweder nur Milchsäure, oder daneben noch flüchtige Säuren, Kohlensäure und oftmals größere Quantitäten Alkohol erzeugen. Es geht daraus hervor, daß bei keiner einzigen mineralischen Nahrung Wachstum eintreten kann, und ebensowenig in Zuckerlösung, in welcher Pepton als Stickstoffnahrung fehlt. Allen aktiven Milchsäurefermenten fehlt die Katalase, wodurch sie sich als ein Ganzes von nahezu allen andern Mikroben unterscheiden. Die pathogenen Mastitisstreptokokken, bei welchen ebenfalls die Katalase zu fehlen scheint, gehören wahrscheinlich auch zu dieser Gruppe. Die Bildung von Mannit aus Lävulose, welche von Beijerinck als eine allgemeine Eigenschaft dieser Bakterien betrachtet worden war, kommt aber, wie sich später herausstellte[5]), nur denjenigen

---

[1]) Centralbl. f. Bakteriologie II. Abt, Bd. **37**, 1913, S. 353.

[2]) Kruse l. c. S. 286.

[3]) Löhnis, Centr. f. Bakt. II. Abt., Bd. **18**, S. 97.

[4]) Verslagen Koninkl. Acad. v. Wetensch., Amsterdam 1907, S. 886.

[5]) Siehe meine Dissertation: Bacteriologische en chemische ondersoekingen over de melkduurgisting (Bakteriologische und chemische Untersuchungen über die Milchsäuregärung), Amsterdam 1913.

Arten zu, welche auch Kohlensäure zu bilden vermögen. Darüber später.

Zu den von Beijerinck in der oben zitierten Abhandlung beschriebenen Arten gehört nun in erster Linie der Lactob. fermentum[1]). Zur Vergleichung mit meinen hier zu beschreibenden Studien über diese Art möchte ich die ursprünglichen Ausführungen Beijerincks ganz kurz mitteilen.

Als Fundort werden die gesäuerten Maischen (levains lactiques) der Preßhefefabriken angegeben, in welchen er regelmäßig vorzukommen pflegt, und worin er einer der kräftigsten Säureerreger zu sein scheint. Es geht daraus hervor, daß für diese Art, und noch einige andere, die Zusammensetzung der Maische eine bessere Entwicklungsmöglichkeit bietet als für andere Arten. Es sind im großen ganzen nur die „aktiven Milchsäurebakterien“, welche das oft wiederholte Umpflanzen der sauren Maische überstehen können. Auf weiter unten zu beschreibende Weise läßt sich Lactob. fermentum daraus, oder aus der damit hergestellten Preßhefe, kultivieren. Er wird von Beijerinck als ziemlich stark mikroaërophil bezeichnet, als stärker als die anderen, durchweg fakultativ anaëroben Milchsäurefermente. Daher ließ er sich schwer auf festem Nährboden kultivieren. Assimiliert wurden die folgenden Zuckerarten: Glukose, Lävulose, Maltose, Saccharose; Milchzucker sehr schwer. Aus allen diesen Stoffen wird Kohlensäure gebildet, während ein Teil der Lävulose und Saccharose (nach vorhergehender Inversion) zu Mannit reduziert wird. Das Temperaturoptimum der Säuerung liegt bei 41—42° C (der Säuregrad in Malzwürze von 10° B beträgt 10,5 ccm Normallauge pro 100 ccm nach 24 Stunden), das Minimum bei 25°, das Maximum bei 50°. Durch fortdauerndes Kultivieren oberhalb der Optimaltemperatur, oder durch starke Aëration, ließ sich das Bakterium in ein anderes überführen (von Beijerinck Lactob. Delbrücki genannt), welches keine Kohlensäure bildet und wenig Milchsäure, aber sehr gut auf Platten wächst. Auch die umgekehrte Transformation ließ sich verwirklichen.

Die hier kurz wiedergegebene Beschreibung stimmt aber, nach einer mündlichen Mitteilung des Herrn Professor Beijerinck, nicht mehr ganz mit seiner heutigen Auffassung über die Eigenschaften des Lactob. fermentum und den Zusammenhang mit dem Lactob. Delbrücki

[1]) Nach der jetzt allgemein angenommenen Nomenklatur der sporenlosen Organismen wäre Lactobacterium richtiger.

überein. Auch Henneberg[1]) hat darauf hingewiesen, daß oben erwähnte wechselseitige Umsetzung dieser beiden Arten nicht mit dem stark säuernden B. Delbrücki der Gärungsgewerbe gelingt, welcher von Leichmann entdeckt[2]) und später von Henneberg eingehend beschrieben worden ist[3]). Manches spricht dafür, daß die von Beijerinck beschriebene Art eine abgeschwächte Form des Lactob. fermentum gewesen sei. Außerdem ist die beschriebene Methode der Isolierung dieser letzteren Art nicht frei von Zufälligkeiten, welche zur Folge haben, daß diese Methode schwer zu reproduzieren sein wird. Aus diesem Grund habe ich es unternommen, die Eigenschaften des Lactob. fermentum aufs neue zu untersuchen und die Wachstumsverhältnisse der beiden genannten Arten festzustellen[4]).

Zunächst folgt eine Beschreibung der leicht zu reproduzierenden Anhäufungsversuche, nach welchen man nach Belieben die eine oder die andere Art aus dem Rohmaterial zu isolieren imstande ist. Ein dafür sehr geeignetes Material, das meistens, unter vielen anderen, auch manche Arten von Milchsäurefermenten enthält, ist die Preßhefe. Man verfährt folgenderweise:

Anhäufung des Lactobacillus fermentum.

Eine Stöpselflasche von etwa 100 ccm wird ganz mit ausgekochter heißer Malzwürze von 10—12^{0} Balling (spez. G. 1,040—1,048) gefüllt, dann läßt man bis zu 40^{0} erkalten, wobei der flambierte Stöpsel umgekehrt auf der Flasche liegt. Sodann wird etwa 2—3 g Preßhefe zugegeben, und die ohne Luftblase geschlossene Flasche bei 37—38^{0} C hingestellt. Die ziemlich hohe Temperatur (das Maximum des Wachstums der Hefe ist 38^{0}) und zumal die Luftabsperrung sind Ursache, daß nur eine ziemlich geringe Hefegärung eintritt, welche schon nach einigen Stunden nachläßt, wobei allerdings oft ein Teil der Flüssigkeit aus der Flasche schäumt, und durch Kohlensäure ersetzt wird, wodurch aber die Anaërobiose erhalten bleibt. Es kommen jetzt aber die vorhandenen Arten der Milchsäurebakterien zur Geltung, und man findet dann nach etwa 18 Stunden in der ganz trüben Flüssigkeit eine sehr große Menge dieser Bakterien neben den größtenteils abgetöteten Hefezellen. Es

---

[1]) Gärungsbakteriologisches Praktikum S. 464.

[2]) Centralbl. f. Bakt. II. Abt, Bd. 2, 1896, S. 284.

[3]) Z. f. Spiritusindustrie 1903, Nr. 22—31.

[4]) Dabei habe ich mich der persönlichen Anregung des Herrn Prof. Beijerinck in Delft erfreuen dürfen.

sind ausnahmslos unbewegliche, oft sehr lange, gerade oder gebrochene Stäbchen, welche sich, ihrer Form nach, nicht als verschiedene Arten unterscheiden lassen. Außer diesen Mikroben und der Hefe hat aber keine einzige der sehr zahlreichen Arten, welche in der Preßhefe anwesend zu sein pflegen, sich in nennenswerter Weise vermehrt: man findet keine einzige davon in der Flüssigkeit wieder. Um nun von dieser Rohkultur zur weiteren Anhäufung des Lactob. fermentum zu gelangen, wiederholt man den genannten Versuch mit diesem Material und setzt dabei die Temperatur bis auf 35° C herab. Nach 24 Stunden



Fig. 1. L. fermentum auf Würzeagar von 10° B. nach 5 Tagen. Es zeigen sich weiße neben wasserhellen Kolonien (etwas verkleinert).

hat wieder eine starke Vermehrung der Milchsäurebakterien stattgefunden, und der Säuregrad beträgt etwa 10 ccm Normallauge pro 100 ccm. Die Hefe ist jetzt fast oder ganz verschwunden und die oft eingetretene Gärung ist nahezu ganz der gesuchten Bakterienart zu verdanken. Man nimmt noch einige weitere Umimpfungen vor, wobei der Säuregrad und die Kohlensäuremenge noch etwas zunehmen, der erstere bis 18 ccm Normallauge pro 100 ccm. Ist die Anhäufung des Lactob. fermentum auf diese Weise gelungen, so wird die Aussaat auf Würzeagar meistens eine Reinkultur liefern, nämlich kleine, wasserhelle Kolonien, welche hier und da zu größeren, milchweißen Kolonien heranwachsen (siehe Fig. 1).

Wiederholte Aussaat dieser weißen Kolonien neben wasserhellen hat mich gelehrt, daß die Bakterien identisch sind, denn aus beiden Aussaaten gehen sowohl wasserhelle wie weiße Kolonien hervor. Man bekommt den Eindruck, daß die Dichtigkeit der Aussaat Einfluß ausübe: die weißen Kolonien überwiegen relativ an dünn besäten Stellen. Eine sehr verdünnte Streukultur läßt demzufolge nur weiße Kolonien aufgehen. Durch Impfung eines Agarstückchens ohne Kolonien in Malzwürze überzeugte ich mich aber davon, daß an diesen Stellen noch lebenskräftige Keime vorhanden waren: es trat starke Gärung ein; aber eine Aussaat von dieser Flüssigkeit auf Malzagar lieferte wiederum wasserhelle und weiße Kolonien wie früher.

Diese Tatsachen weisen auf den Umstand hin, daß sich in unseren Kulturen mehr und weniger anaërobe Keime vorfinden. Bei weniger dichter Aussaat wachsen nur die letzteren zu Kolonien heran, während die ersteren noch kurze Zeit auf der Platte lebendig bleiben, ohne sich zu vermehren. Nur eine dichte Aussaat gibt ihnen Gelegenheit zur Kolonienbildung: es entstehen die wasserhellen Kolonien, welche aber eine Anzahl weniger anaërober Nachkömmlinge enthalten: diese bilden wiederum einige weiße Kolonien. Das Wachstum der wasserhellen Kolonien bleibt immer beschränkt: nach etwa einer Woche sind ihre Bewohner abgestorben, während die weißen Kolonien noch viele lebendigen Keime enthalten. Lactob. fermentum gehört also zu den mikroaërophilen Bakterien.

Anhäufung des Lactobacillus Delbrücki.

Macht man den oben beschriebenen Anhäufungsversuch nicht bei 38°, sondern bei 45°—48° C, so bekommt man ganz andere Resultate. Auch jetzt tritt anfangs eine vorübergehende Alkoholgärung auf, selbstverständlich aber viel schwächer wie bei 38°. Hier wie dort findet man nach 24 Stunden die Flüssigkeit ganz mit langen Milchsäurebakterien erfüllt, welche sich nicht von den bei 38° erhaltenen unterscheiden lassen. Die Umimpfung bei 45° liefert aber meistens schon etwas anderes: es tritt nämlich jetzt keine Gärung mehr ein. Wiederholt man die Umimpfungen bei 45°, so hört aber bald auch das Wachstum in 10° B.-Würze auf, und man tut besser die Versuche mit einem zuckerreicheren Medium fortzusetzen: die 10° B.-Würze hat sich für B. Delbrücki auf die Dauer als zu arm erwiesen. Sehr günstig aber wirkt die unverdünnte, nicht filtrierte Maische (35% Mehl). Darin stellt sich

bei 45—48° ein sehr intensives Wachstum und eine starke Säuerung ein, welche selbst vorhergehendes Sterilisieren überflüssig macht: die schnelle Säurebildung in der kurz aufgekochten Maische läßt keine anderen Mikroben aufkommen. Geht man aber nach einigen Umimpfungen zu einer Plattenkultur auf Malzagar über, so erweist sich das Wachstum (bei 37—40°) als sehr gering oder bleibt vollständig aus. Auch



Fig. 2. L. fermentum (linke Hälfte) neben L. Delbrücki (rechte Hälfte) auf Maischeagar (18° B.) nach 2 Tagen (natürliche Größe).

hier kommt die zu geringe Konzentration (wahrscheinlich des Eiweißes) der Würze zur Geltung und wiederum gibt das stärkere Maischeagar ein besseres Resultat. Man findet auf einer solchen Platte (bei 37 bis 40°) oft zwei Arten von Kolonien: weiße, halbkugelige Kolonien vom Typus des Lactob. fermentum, und flache. mattweiße Kolonien des Lactob. Delbrücki (siehe Fig. 2). Zu dieser Differenz im Wachstum kommt noch eine andere: beim Lactob. Delbrücki (und auch bei den übrigen Lactobazillen mit einem Wachstumsoptimum über 40°) fehlt unter den Gärungsprodukten die flüchtige Säure, während aus Lävulose

und Saccharose kein Mannit gebildet wird. Später wird erörtert werden, in welchen Fällen die Bildung dieses Stoffes beobachtet wird.

Impft man von beiden oben genannten Arten einige Kolonien in geschlossene Flaschen mit Malzwürze oder besser -maische, so findet man darin, wie zu erwarten war, nach 24 Stunden bei 40° in der einen (mit Lactob. fermentum) eine intensive Gasbildung, in der anderen keine Spur von Gas. Der Säuregrad ist in beiden Flaschen ungefähr gleich: 14 resp. 16 ccm norm. Säure pro 100 ccm.

Wie ersichtlich, ist die Anhäufung des Lactob. Delbrücki auf diese Weise weniger vollständig wie die des L. fermentum, denn es wird auf diese Weise offenbar keine Reinkultur von L. Delbrücki erhalten. Die Ursache liegt in der Anwendung der Malzmaische, statt Würze, worin L. fermentum auch bei Temperaturen oberhalb 40° noch ziemlich gut gedeihen kann (siehe später)! Näheres über (Lacto-) Bacillus Delbrücki findet man in Hennebergs Gärungsbakteriologischem Praktikum (Berlin 1909).

Fundorte des Lactobacillus fermentum.

Wie gesagt, findet sich diese Bakterienart mit großer Konstanz in der „Korningsgist“ der „Niederl. Hefe- und Spiritusfabrik“ in Delft. Von Interesse war es, auch andere Hefearten daraufhin zu untersuchen.

Die Hefe der Hefe- und Spiritusfabrik Vlek & Co. in Delft lieferte durch den beschriebenen Anhäufungsversuch eine Kultur eines flockenbildenden Milchsäurebakteriums, wobei die Gasbildung erst am dritten Tage eintrat, während der Säuregrad schon 19 betrug. Es scheint mir dem L. fermentum nahe verwandt, was aus der Mannitbildung aus Lävulose und Saccharose hervorgeht. Die Hefe der Brennerei und Hefefabrik „Hollandia“ in Schiedam steht in dieser Hinsicht der „Korningsgist“ nahe, obgleich diese nach dem Lüftungsverfahren, jene größtenteils nach dem Wiener Verfahren hergestellt wird. Es ließ sich aus dieser Preßhefe ohne Mühe eine Kultur des L. fermentum erhalten.

Ich hatte die Gelegenheit, auch zwei ausländische Hefen in dieser Richtung zu untersuchen, nämlich die „Trockenhefe nach Dr. A. v. Lebedew“ von der Firma Schröder in München und die „Konservierte Getreidebrennereihefe“ der Heinr. Elbing A.-G. in Wandsbek-Hamburg. Erstere Art ergab ein vollständig negatives Resultat. Das Präparat erwies sich als gänzlich frei von Milchsäurebakterien, was auch von einer getrockneten Bierhefe zu erwarten war. Die zweite Art lieferte da-

gegen ein den holländischen Hefen analoges Resultat: es ließ sich daraus ein Milchsäurebakterium isolieren, das von L. fermentum nicht zu unterscheiden war. Es wird also ohne Zweifel bei der Herstellung ein analoges Hefengut benutzt.

Die Frage, ob auch in der Natur L. fermentum vorzukommen pflegt, war von Interesse. Daß auf manchen Getreidearten Milchsäurebakterien zu finden sind, ist schon von Henneberg betont worden[1]), und diese Tatsache hat schon zu einem Anreicherungsversuch des B. Delbrücki Anlaß gegeben (siehe dort). Für L. fermentum ist dieser aber ungeeignet, da das Optimum zu niedrig ist, um andere Arten ausschließen zu können. Auch das oben beschriebene Verfahren ist nicht ohne weiteres brauchbar infolge der Anwesenheit von Buttersäurepilzen. Es leuchtet ein, daß die vorherige Säuerung des Mehles zu einem Sauerteig diese Schwierigkeit beseitigen kann. Die Anwesenheit von L. fermentum ist aber in einem bei niedrigerer Temperatur als üblich bereiteten Sauerteig kaum zu erwarten, da, wie oben erwähnt wurde, bei etwa 15° das Wachstumsminimum liegt. Es liegt dann aber die Vermutung nahe, daß in einem bei höherer Temperatur gesäuerten Teige die Wahrscheinlichkeit größer sein wird. Bekanntlich stellt sich bei + 30° in einem Mehlteige eine „Levans"-Gärung ein, welche später (zumal wenn frühzeitig umgeimpft wird) durch eine starke Säuerung ersetzt wird. Eine Umimpfung bei 37—40° wird sodann nützlich sein können. Die naheliegende Erwartung, daß sich dabei auch B. Delbrücki stark vermehren wird, fand sich vollauf bestätigt: wurde der so erhaltene Teig in geschlossenen Flaschen mit Würze geimpft, so trat schon nach 24 Stunden starke Säuerung und Gärung ein, und Plattenkulturen zeigten hauptsächlich zwei Arten von Kolonien: die eine vom Typus B. Delbrücki, die andere vom Typus L. fermentum. Impfung beider Arten in sterile Maische erbrachte das erwartete Resultat: die erstere bildete kein Gas, die zweite sehr reichlich, während auch Wachstum und Säuerung den früher gegebenen Daten entsprachen. Diese Tatsache, daß in spontan gesäuertem Mehlteig eine Art vom Typus L. fermentum vorzukommen pflegt[2]), gibt den Grund dafür an, weshalb diese Art in mehreren Preßhefearten aufgefunden werden konnte.

---

[1]) Henneberg, Gärungsbakt. Praktikum, S. 96.

[2]) Der von Henneberg, Gärungsbakt. Prakt., S. 498 beschriebene B. panis fermentati gehört wahrscheinlich auch zu dieser Gruppe, ist aber mit der von mir aufgefundenen Art nicht identisch. Man vergleiche dazu die beiden Beschreibungen.

Die früher erwähnte Tatsache, daß Alkoholhefen auf das Wachstum der Milchsäurebakterien einen sehr günstigen Einfluß ausüben, weist einen zweiten Weg, auf welchem sich diese Arten aus natürlichen Materialien anhäufen lassen: gelingt es, auf irgend eine Weise eine Alkoholgärung hervorzurufen, so wird mit großer Wahrscheinlichkeit eine Milchsäuregärung als Nachgärung folgen können. Selbstverständlich braucht man dazu ein Infektionsmaterial, worin diese Bakterien vorkommen, also diejenigen, welche in irgendwelcher Beziehung zur menschlichen Haushaltung stehen wie Sielwasser oder Gartenerde.

Um nun mit diesen Materialien eine Alkoholgärung hervorzurufen, impft man sie in reichlicher Menge in ein Nährsubstrat wie Malzwürze, welches ebenfalls den nachfolgenden Milchsäurebakterien zuträglich ist. Um etwaige Buttersäuregärung auszuschließen, ist es unerläßlich, die Würze ziemlich stark anzusäuern, bis zu etwa 4 oder 5 ccm Norm.-Milchsäure pro 100 ccm [1]). Die Kolben werden bei 30° hingestellt, wobei sich nicht selten schon in 24 Stunden Alkoholhefe, oft neben Kahmhefen, Mucor- oder Oïdiumarten, ansiedeln. In manchen Fällen schien es vorteilhaft, noch stärker, bis zu 10 Norm. pro 100, anzusäuern, wobei allerdings oft die große Wasserstoffsarcine [2]) primär in den Vordergrund tritt, welche aber bei aëroben Umimpfungen mit weniger Säure vor den mitgewachsenen Hefen zurücktritt. Einer meiner diesbezüglichen Versuche mit Gartenerde brachte eine sehr üppige Entwicklung einer Mykodermaart, während sich in der ersten Überimpfung mit 5 Norm.-Milchsäure außerdem eine unbewegliche Bakterienart vorfand, welche den gewöhnlichen Milchsäurestäbchen sehr ähnlich sah. Nach 3 Tagen bei 30° wurde umgeimpft in Flaschen mit Würze von 10° und 18° B. bei 35°. Schon nach 24 Stunden war in ersterer ein deutliches, in der zweiten ein sehr starkes Wachstum und reichliche Gasbildung eingetreten. Mikroskopische Betrachtung ergab ein Bild, das demjenigen des früher beschriebenen Versuches mit Preßhefe vollkommen ähnlich war. Das Wachstum der Mycoderma war hingegen durch den Luftabschluß vollkommen gehemmt worden. Ausstrichkulturen auf Würzeagar ergaben zwei Arten von Milchsäurebakterien, von denen die eine den unverkennbaren Typus des L. fermentum trug, während die andere kleine spinnenartige Kolonien darstellte, welche stark an dem Agar hafteten.

---

[1]) Um gute Resultate zu erzielen, muß dabei das Säurebindungsvermögen der Gartenerde in Rechnung gezogen werden.

[2]) Siehe darüber Beijerinck, Verl. Kon. Akad. Amsterdam, XIII, 1905. 608.

Nur erstere verursachten in Würze eine Kohlensäureentwicklung und säuerten bis zu 12 ccm Norm. pro 100 nach 3 Tagen. Ein abermaliger Ausstrich erwies die vollkommene Reinheit. Als ich aber Kulturen in Hefewasser mit 5 % Lävulose und Kreide anstellte, um die Mannitbildung zu untersuchen, stellte sich heraus, daß darin die Entwicklung nur spurenweise eintrat. Änderung der Temperatur, der Konzentration oder der Beschaffenheit des Impfmaterials hatte keinen besseren Erfolg. Kontrollversuche mit einem Fermentum-Stamm aus Hefe ergaben ausnahmslos ein positives Resultat. Es wurde darum das Wachstum in den folgenden Lösungen studiert:

a) Hefewasser mit 5 % Lävulose und 1 % Pepton (Witte),
b) Hefewasser mit 5 % Glukose,
c) Hefewasser mit 5 % Saccharose,
d) Würze (10° B.) mit 3 % Lävulose,

jedes mit einem Übermaß an Kreide.

In den Lösungen b und d trat nach 24 Stunden üppige Entwicklung ein, in c erst nach 2 Tagen, in Lösung a war kein Wachstum wahrzunehmen, während ein Kontrollversuch mit einem Stamme aus Preßhefe gerade in dieser Lösung das beste Resultat zeitigte. Die Lösung c zeigte nach 10 Tagen nur noch eine geringe Drehung nach links, welche nach Inversion dieselbe blieb. Ein Teil der in der Saccharose enthaltenen Lävulose hatte sich also der Vergärung entzogen. Die Glukose aus Lösung b war nach dieser Zeit vollkommen vergoren, während d noch etwas unvergorene Maltose enthielt, neben Mannit, welcher Stoff sich auch in Lösung c nachweisen ließ. Das Wachstum in Milch war etwas besser als es der Stamm aus Hefe zeigte.

Es liegt hier offenbar eine Varietät des L. fermentum vor, mit der für Milchsäurebakterien seltenen[1]) Eigenschaft, daß es die Lävulose kaum anzugreifen vermag.

Die Frage tut sich auf, ob die aus verschiedenen Materialien isolierten Stämme Varietäten derselben Art seien, oder zu mehreren Arten gezählt werden müßten. Meines Erachtens läßt sich diese Frage kaum befriedigend beantworten, da bei den Milchsäurebakterien die Unterscheidung der Arten bis jetzt ziemlich willkürlich ist, und außerdem oft Änderungen erleidet. Z. B. erwähnt Henneberg (Gärungsb. Praktikum, S. 454), daß es gelungen sei, B. Delbrücki an Milch zu gewöhnen.

---

[1]) Henneberg, Z. f. Spiritusindustrie 1903 erwähnt dasselbe für seinen Saccharobacillus pastorianus var. berolinensis und für B. Lindneri.

Damit würde aber der einzige wesentliche Unterschied mit B. lactis acidi (Leichmann) und B. caucasicus hinfällig. Es steht zu erwarten, daß weiteres Studium mehrere ähnliche Differenzen zwischen Bakterienarten überflüssig machen würde. Einen deutlichen Hinweis darauf bietet auch die Tatsache, daß eine Reinkultur des Saccharobacillus pastorianus, welche Herr Prof. van Laer mir freundlichst übersandte, sich einigen Zuckerarten (Arabinose, Mannit) gegenüber anders verhielt, als es Henneberg (l. c. 401) von dieser Art beschreibt (siehe später). Die Vermutung liegt daher nahe, daß die beschriebenen „Fermentum"-Stämme Varietäten einer einzigen Art darstellen, welcher der Name Lactobacillus fermentum Beijerinck zukommt. Diese Art kennzeichnet sich durch die Bildung von Mannit aus Lävulose und oft[1]) auch aus Saccharose, und die Bildung von Kohlensäure aus allen vergärbaren Zuckerarten. Unter den Gärungsprodukten findet man weiter flüchtige Säure (Essigsäure und eine Spur Ameisensäure), Bernsteinsäure, Milchsäure, Alkohol (nicht aber aus Lävulose) und etwas Glyzerin[2]). Die Form ist die der „langen" Milchsäurebakterien. Von der Gruppe der Lactobacillen mit höherem Temperaturoptimum (43 bis 48°), wie B. Delbrücki, B. caucasicus, lassen sie sich dadurch unterscheiden, daß die letztgenannte Gruppe keine Kohlensäure, keinen Mannit und keine flüchtige Säure bildet. Auch das Wachstum auf der Agarplatte ist verschieden.

Unter den von W. Henneberg beschriebenen Arten[3]) findet man keine, die mit der oben gegebenen Beschreibung von L. fermentum vollkommen übereinstimmt. Die meiste Ähnlichkeit haben: B. brassicae fermentatae, B. panis fermentati, B. Haydncki und B. Buchneri, welche aber alle in einer oder mehreren Beziehungen abweichen. Ob diese Differenzen von wesentlicher Bedeutung sind, läßt sich schwer entscheiden, zumal bei der Isolierung der Zufall eine etwas zu große Rolle spielt, wodurch das Bild getrübt erscheint und kaum zu reproduzieren ist. Man kann nicht ganz sicher sein, daß es sich dabei um scharf umgrenzte und getrennte Arten handelt. Ob alle diese Arten in die Gruppe des L. fermentum einzureihen seien, muß einstweilen un-

---

[1]) Das „Ferment mannitique" von Gayon und Dubourg (Ann. Pasteur, Bd. 8 und 15) tut dies nicht, gehört aber sehr wahrscheinlich auch zu dieser Art.

[2]) Für die chemischen Einzelheiten siehe meine Dissertation, Amsterdam 1913.

[3]) Henneberg, Z. f. Spiritusindustrie 1903, N. 22—31.

entschieden bleiben: dafür fehlen allzuviel chemische Daten. Nur die Bildung der Kohlensäure ist allen gemeinsam; die Bildung des Mannits wurde nicht untersucht. Wir werden darauf weiter unten zurückkommen.

Beschreibung des Lactobacillus fermentum.

Morphologie.

Die Länge der einzelnen Zellen wechselt ziemlich stark, und ist von der Beschaffenheit des Nährmediums abhängig. Wie schon erwähnt, zeigt sich diese Art in den Rohkulturen (mit Hefe vermischt) als dünne stark gekrümmte Fäden von ziemlich großer Länge (bis zu 30 μ). Die Reinkultur aber enthält Zellen von konstanterer, aber viel



Fig. 3. Lactobacillus fermentum (Beijerinck). Auf Würzeagar gewachsen. Mit Carbolfuchsin gefärbtes Präparat. Vergr. 920fach.

geringerer Größe und etwas größerer Dicke, nämlich 3—15 μ : 0,5—1 μ. Die Zellen auf Würze sind durchschnittlich etwas plumper gestaltet: 3—7 μ : 0,8 μ. Hefewasseragar mit 5 % Saccharose und Kreide ließ viele Zellen von 10—15 μ Länge aufkommen, während hie und da 50 μ erreicht wurde. Auch starke Luftzufuhr, z. B. in dünnen Würze-

schichten, vermehrte die Länge der Individuen (bis 30 μ), ebenso wie niedrige Temperatur (13—15°), wobei die Länge 8—60 μ betrug. Die Abbildung des L. fermentum (Fig. 3) zeigt, daß die Stärke der Bakterien in dem mit Karbolfuchsin gefärbten Präparat stark wechseln kann. Außerdem ist an einigen Zellen Plasmoptyse zu beobachten, was wahrscheinlich durch das Eintrocknen und Färben verursacht wird. Übrigens sind Involutionsformen selten. Sie zeigen sich in den Plattenkolonien bei weitem nicht so oft, wie es mit B. Delbrücki der Fall zu sein scheint[1]).

Das Wachstum im hängenden Tropfen ist wenig charakteristisch: die Bakterien bilden keine Ketten, sondern liegen frei in strukturlosen Haufen beisammen.

Wachstumsbedingungen.

Die Tatsache, daß L. fermentum zu den aktiven Milchsäurefermenten gehört, schließt schon mehrere der gebräuchlichen Nährmedien für diese Bakterienart aus. Dazu gehören in erster Linie die zuckerlosen Flüssigkeiten wie Fleischbrühe, Hefewasser u. a. m. Von diesen liefert aber letzteres eine vorzügliche Stickstoffnahrung: 5% eines vergärbaren Zuckers können unter geeigneten Umständen ganz verzehrt werden. Wie schon erwähnt, liefert Malzwürze einen vorzüglichen Nährstoff[2]) und die stickstoffhaltigen organischen Medien pflanzlichen Ursprungs scheinen bei weitem die geeignetsten zu sein. Welche Zwischenstufen zwischen genuinem Eiweiß (welches infolge des Mangels an proteolytischen Fermenten wertlos ist) und Aminosäuren (welche ebenfalls untauglich sind) von den Milchsäurefermenten bevorzugt werden, ließ sich auf folgendem Wege entscheiden: 1. Peptone (durch Ammonium- oder Zinksulfat nicht fällbare Eiweißkörper mit rein roter Biuretreaktion) sind nicht unbedingt notwendig[3]), denn Milch enthält keine, wohl aber Albumosen. 2. Pepton „Witte“ hat sich als einen mäßig geeigneten N-Körper erwiesen: erst in einer Lösung von 8% Pepton, 8% Glukose und $^1/_{20}$% KH_2PO_4 trat mäßiges Wachstum ein (Säuregrad 9 ccm norm. Säure pro 100 ccm). Dieses Pepton enthält aber fast nur tierische Albumosen (Fällung durch Ammoniumsulfat, Biuretreaktion: violett), welche, wie gesagt, den Milchsäurebakterien weniger zusagen als pflanz-

---

[1]) Siehe z. B. Henneberg, l. c., S. 452.

[2]) Gehopfte Würze und Bier sind hingegen ungeeignet, durch die schädliche Wirkung des Hopfengiftes. Daher läßt auch Bier mit 2% Glukose kein Wachstum zu.

[3]) Siehe Beijerinck, Arch. Nerl., II., I., 1901, 6, 212.

liche. 3. Tierische Peptone im chemischen Sinne erwiesen sich als ungefähr gleich gut wie die Albumosen. Ich benutzte ein Präparat von Grübler-Leipzig (Pepton puriss., alcoh. dep.), welches mit Ammoniumsulfat nur eine sehr geringe Fällung zeigte und eine rein rote Biuretreaktion ergab. Auch hier brauchte ich 8% Pepton neben 8% Glukose und ¼% KH_2PO_4, bevor Wachstum und Gärung eintrat (5% war wirkungslos). Säuregrad 11—12 nach 2 Tagen.

Mir fehlte ein einigermaßen reines Präparat eines pflanzlichen Peptons, womit sich vielleicht bei kleineren Konzentrationen gute Resultate hätten erzielen lassen. Dergleichen kleinere Konzentrationen der pflanzlichen Albumosen findet man aber in Würze und Hefewasser, welche sich als sehr geeignet erwiesen. Schon nach 15 Stunden hat L. fermentum eine 10%ige Würze in geschlossenen Flaschen gleichmäßig getrübt, ohne Flocken oder Bodensatz. Bald darauf fängt die Gasbildung an, welche einige Tage anhält. Schon nach 24 Stunden ist etwa ¾ des Säuremaximums erreicht, das Maximum selbst nach etwa 3 Tagen, nach welcher Zeit Wachstum und Säuerung aufhören, und die Flüssigkeit sich zu klären anfängt.

Säurebildung.

Das Säuremaximum beträgt in Würze von 10° B. bei 35° etwa 12,5 ccm norm. Säure pro 100 ccm, in unfiltrierter oder grobfiltrierter Maische von 18° B. 18—20 ccm. Wie man sieht, erreichen die Säuregrade der Reinkulturen erheblich niedrigere Werte als die Anhäufungskulturen: die dritte oder vierte Umimpfung dieser letzteren säuert in Würze von 10° B. bis etwa 18, in starker Maische bis 22—25 ccm. Wiederholte Umimpfungen der Reinkulturen vermögen diese Säuregrade nicht wieder zu regenerieren.

Die Säuerung in Hefewasserlösungen ist weniger intensiv: in geschlossener Flasche wird in Hefewasser mit 5% Glukose ein Säuregrad von 8,5 ccm erreicht (nach 11 Tagen).

Das Wachstum auf Hefewasseragar mit vergärbarem Zucker ist, wie auf Würzeagar, nicht besonders kräftig, etwas besser aber, wenn dem Agar etwas Kreide hinzugefügt wird. Die Kolonien sind denen auf Würzeagar sehr ähnlich. Auch auf Würzegelatine sieht man dasselbe Kolonienbild, wiewohl erst nach 5 Tagen bei 24° Wachstum eintritt. Die Abmessungen der Stäbchen zeigen auf allen diesen Nährböden keinen charakteristischen Unterschied. In Stichkulturen ist das Wachstum üppig bis unten im Stich. Oft wird der Agar durch die gebildete Kohlensäure

ganz zerrissen, wobei oft die Agarstücke bis dicht unter dem Wattepfropfen emporsteigen.

Untenstehende Tabelle zeigt den Einfluß freien Luftzutritts auf die gebildete Säuremenge. Kultiviert wurde in sehr dünnen Flüssigkeitsschichten in Erlenmeyer-Kolben bei 35°. Daneben die Zahlen in den entsprechenden Flaschenkulturen. Das Säuremaximum bleibt in den Kolben ziemlich niedrig und wird im allgemeinen später erreicht.

Tabelle I.

Säuregrade mit und ohne Luftzutritt.

		Nach 2 Tagen	Nach 11 Tagen
Malzwürze 10° B. (Säuregrad 2,5)	aëriert	9	9
	nicht aëriert	11,5	13,2
Hefewasser, 5% Saccharose (Säuregrad 1,5)	aëriert	4,5	8,5
	nicht aëriert	10,5	12,0
Hefewasser, 5% Glukose (Säuregrad 1,5)	aëriert	4,5	7,5
	nicht aëriert	7,5	8,5

Vergärung der Kohlehydrate usw.

Von L. fermentum werden vergoren: Glukose, Lävulose, Galaktose, Maltose, Saccharose, Laktose, Melibiose, Raffinose; nicht vergoren werden: Arabinose, Xylose, Trehalose, Rhamnose. Sorbose, α-Methylglucosid, Quercit, Sorbit, Mannit, Dextrin[1]), Pepton (Witte), Inulin, Äpfelsäure, Ca-malat, Ca-lactat; sehr wenig: Mannose, Erythrit.

Die Gärfähigkeit wurde in 1%iger Hefewasserlösung bestimmt. Nach 1, 4 und 8 Tagen wurde das Wachstum beobachtet. Ein Kölbchen mit Hefewasser ohne Zucker diente als Kontrolle. Es trat darin kein merkliches Wachstum ein. Von den Produkten, welche aus dem vergorenen Zucker gebildet werden, wird später die Rede sein.

Von Interesse war die Beantwortung der Frage, ob die vergorenen Biosen und Triosen als solche assimiliert oder vorher hydrolysiert werden. Eine Antwort läßt sich auf drei Wegen erreichen.

---

[1]) Drei verschiedene, in kaltem Wasser lösliche Dextrine, ergaben ein negatives Resultat.

1. Flüssige Kulturen. Man untersucht mit Fehlingscher Lösung, ob während der Gärung reduzierender Zucker gebildet wird. Die Methode ist also nur brauchbar, wenn nicht reduzierende Biosen oder Triosen vorliegen. Ich benutzte diese Methode mit Saccharose und Raffinose (5%ige Lösung in Hefewasser mit Kreide). In keinem der beiden Fälle konnte eine Inversion nachgewiesen werden, weder beim Anfang noch beim Ende der Vergärung.

Dieses Resultat ist nicht stark überzeugend, in Anbetracht der Möglichkeit, daß die gebildeten Monosen schneller verzehrt als erzeugt sein können.

2. Plattenkulturen. Diese Versuche sind den vorigen sehr ähnlich: hat man in den Agarplatten eine nicht reduzierende Biose gelöst, so wird man, falls Inversion stattfindet, Reduktion der Fehlingschen Lösung nachweisen können, wenn man in der Gegend der Bakterien ein Stückchen Agar ausschneidet, oder die ganze Platte mit der heißen Lösung übergießt. Die Verhältnisse liegen hier etwas günstiger als im vorigen Falle, da sich die gebildeten Hexosen durch Diffundieren der Verzehrung entziehen können. Das Resultat meiner Versuche mit Hefewasseragar mit 5% Saccharose und Kreide und mit 1% Raffinose war negativ, wiewohl die Bakterien stark gewachsen waren.

3. Man kann auch Monosen nachweisen mit Hilfe gewisser Hefearten, welche nur auf Kosten dieser einfachen Zucker zu wachsen vermögen. Schüttelt man in dem noch flüssigen Hefewasseragar mit Saccharose (2%) etwas von einer solchen Hefe (z. B. Saccharomyces apiculatus) auf, so wird sich in der fertigen Platte die Inversion zeigen durch das Wachstum der Hefe um die Impfstriche der invertierenden Bakterie herum: die Platte trübt sich dort. Außer mit Saccharose habe ich auf diese Weise Versuche mit Laktose und Raffinose angestellt. Das Wachstum des Lactob. fermentum ist auf einer solchen Platte sehr üppig[1]). Nichtsdestoweniger war das Wachstum der Hefe in allen Fällen sehr gering, bei der Laktose sogar gleich null. Es war nicht der Zustand der Hefe daran Schuld, denn einige zufällige Infektionen aus der Luft riefen auf der Saccharoseplatte sehr starke Wachstumsfelder hervor. Auch für die Annahme eines schädlichen Produktes von L. fermentum liegt kein Grund vor. Es scheint also nur eine sehr geringe Inversion einzutreten; vielleicht ist das invertierende Enzym nur ein Endoenzym,

---

[1]) Es zeigt sich hier wiederum eine starke Förderung des Wachstums durch Anwesenheit einer Hefe, wie es auch bei den Anhäufungskulturen zu bemerken war.

das erst nach dem Tode einer großen Menge Bakterien in nennenswerter Menge zutage tritt. Allerdings genügt diese Erklärung bei der Laktose nicht.

L. fermentum ist ein sehr kräftiger Gärungsorganismus: in geeigneter Lösung (besonders Hefewasser mit Kreide) wird 5% eines vergärbaren Zuckers in 4—5 Tagen vollständig aufgezehrt. Wichtig dabei ist, daß die Flüssigkeit durch die Kreide annähernd neutral bleibt.

Jedoch auch ohne Kreide kann diese Bakterie bei sehr großen Zuckerkonzentrationen eine Säuerung verursachen: das Maximum lag für Saccharose bei 40—45%. Bei 48% war keine Entwicklung mehr möglich.

Weit empfindlicher zeigte sich L. fermentum gegen eine saure Reaktion der Nährflüssigkeit: die Zugabe von mehr als 3 ccm norm. Milchsäure pro 100 ccm Würze mit einem natürlichen Säuregrad von 2,5 ccm norm. Säure pro 100 ließ kein Wachstum zu. Der Säuerungsprozeß scheint demnach in gewissem Grade vom Wachstum unabhängig zu sein, denn in nicht gesäuerter Würze kann der Säuregrad bis zu 12 ansteigen, während das Wachstum schon bei mehr als 5,5 ccm vollständig aufhört. Es können also nur die gebildeten Enzyme sein, welche den Säuregrad weiter erhöhen.

Ein geringer Säuregrad, wie ihn die Würze zeigt, scheint aber doch vorteilhaft zu sein, denn auf Lackmus neutralisierte Würze zeigt sich für das Wachstum weniger günstig als nicht neutralisierte. Alkalische Flüssigkeiten sind für Wachstum und Säuerung ungeeignet.

Das Wachstum in Milch ist sehr gering, wiewohl die Laktose in Hefewasserlösung gut vergoren wird. Es scheint wiederum die Eiweißnahrung daran Schuld. Nur durch Impfung mit einer kräftigen Würzekultur ließ sich eine Entwicklung in Milch erzielen, Plattenkolonien reichten dazu nicht aus. Es wurde niemals ein höherer Säuregrad als 6,5 ccm erreicht. Auch gelang es nicht, L. fermentum durch Anhäufungsversuche in Milch statt in Würze an erstere zu gewöhnen.

Einfluß der Temperatur.

Das Optimum des Wachstums und der Säuerung liegt in den ersten 24 Stunden bei 37—40°, nach 5 Tagen war aber bei 35° die größte Säuremenge gebildet. Das Minimum liegt unter 13°. Bei dieser Temperatur trat erst nach 15 Tagen merkliches Wachstum ein. Das Maximum in Würze liegt bei 48°, bei welcher Temperatur aber in Malzmaische (35% Mehl) noch ziemlich starkes Wachstum möglich ist.

Bei 50° hört aber jede Wachstumsmöglichkeit auf. In der Tabelle II sind einige Daten, die sich auf das Verhältnis zwischen Temperatur und Säuregrad beziehen, zusammengestellt.

Tabelle II.

Beziehung zwischen Temperatur und Säuregrad in geschlossenen Flaschen mit Malzwürze (10° B.).

Temperatur °	Nach 1 Tag	Nach 5 Tagen	Bemerkungen
13—14	kein Wachstum	kein Wachstum	Erst nach 15 Tagen fängt das Wachstum an. Sehr lange Bakterien (bis 60 μ). Nach 19 Tagen Säuregrad 8.
18—20	dasselbe	9	Das Wachstum fängt erst nach 3 Tagen an, die Gärung nach 4 Tagen.
24	4	11,4	Wachstum n. 2, Gärung n. 3 Tagen.
30	8	12,4	Wachstum u. Gärung nach 2 Tagen.
33	9	—	Dasselbe nach 1 Tag.
35	9,5	12,6	Dasselbe.
37	10	12,5	Dasselbe.
40	10	12,0	Dasselbe.
45	7,5	10,0	Dasselbe.
48—49	kein Wachstum	6	Wachstum u. Gärung nach 2 Tagen.
55	dasselbe	kein Wachstum	

Die Abtötungstemperatur wurde bestimmt, indem Ösen von einer 18stündigen Würze-Kreide-Kultur mit je 1 ccm steriler Würze in Reagenzröhrchen vermischt wurden, welche darauf bestimmten Temperaturen ausgesetzt wurden. Nach schnellem Kühlen unterm Wasserstrahl goß ich den ganzen Inhalt in Kölbchen mit 18°iger Würze. Nach 24 Stunden bei 35° wurde mit der nicht erhitzten Kontrolle verglichen. Bei letzterer trat kräftiges Wachstum ein. Drei Minuten lange Erhitzung auf 60° hemmte das Wachstum nicht, wohl aber 2 Minuten auf 65° (1½ nicht) und in der Mehrzahl der Versuche auch 1 Minute auf 70° (½ Minute nicht). Beijerincks Angaben[1]), daß eine 25 Minuten dauernde Erhitzung auf 70° ertragen werde, kann ich also nicht bestätigen.

[1]) L. c., S. 226.

Reduktionsprozesse.

L. fermentum ist, wie auch andere Milchsäurebakterien ein stark reduzierender Organismus: Lackmus, Methylenblau und Indigkarmin werden in Flaschenkulturen schnell entfärbt, amorpher Schwefel zu H_2S reduziert. Auch aus $Na_2S_2O_3$, nicht aus Na_2SO_3, wird Schwefelwasserstoff gebildet. Es wird wahrscheinlich der durch Säuren aus Thiosulfat abgespaltene Schwefel davon die Ursache sein[1]).

Die Reduktion von Molybdänsäure, Wolframsäure und m-Vanadinsäure, welche von vielen Mikrobenarten sehr leicht stattfindet und zu intensiv blau gefärbten Verbindungen Veranlassung gibt, wird von L. fermentum nicht bewirkt. Auch zur Nitratreduktion ist diese Art nicht imstande, das Wachstum in Malzwürze mit $^1/_{10}$% KNO_3 in geschlossener Flasche war ausgezeichnet, aber nach 7 Tagen war kein Nitrit nachzuweisen, während die Nitratreaktion nicht merklich abgenommen hatte.

Glukosidspaltung.

Bekanntlich sind mehrere Bakterienarten zu der Spaltung gewisser Glukoside, z. B. Amygdalin, Indikan, Aeskulin, befähigt, u. a. mehrere Aërobacterarten, B. anthracis, B. prodigiosus. Nach Beijerinck[2]) gehören dazu auch die aktiven Milchsäurefermente. Meine Versuche mit L. fermentum in dieser Richtung hatten aber negativen Erfolg. Allerdings ist aber die schwach-saure Reaktion der Nährböden (Alkalisieren hemmt das Wachstum) für das Zustandekommen der Reaktion weniger günstig, aber auch auf Platten, die mit Kreide nahezu neutral gehalten wurden, war die Verfärbung mit Aeskulin und Indikan äußerst gering. Spaltung des Amygdalins ließ sich ebensowenig nachweisen wie die Bildung eines Erepsins, wie es Barthel[3]) bei einigen Milchsäurebakterien (B. bulgaricus, B. lactis acidi Leichmann, Bact. casei ε v. Freudenreich) nachgewiesen hat.

Färbung.

L. fermentum läßt sich nach Gramm leicht färben, ist aber nicht säurefest. Sonstige übliche Farbstoffe (Löfflers Methylenblau,

---

[1]) Siehe über Reduktionsprozesse u. m.: Beijerinck, Phenomènes de reduction produits par les microbes, Arch. Néerl. Ser. II, T. IX, 1904, S. 136.

[2]) Versl. Kon. Akad. Amsterdam, 1907, S. 886.

[3]) Barthel, Z. f. Gärungsphysiologie, Bd. 2, 1913, S. 214.

Carbolfuchsin, Carbolgentianviolett, wässeriges Fuchsin u. a. m.) werden leicht aufgenommen.

Mannitbildung durch Milchsäurebakterien.

Wie schon erwähnt wurde, ist L. fermentum imstande, einen Teil der dargebotenen Lävulose und Saccharose zu Mannit zu reduzieren.

Die Bildung dieses Stoffes in zuckerhaltigen Flüssigkeiten ist eine längst bekannte Tatsache. Zum erstenmale hat Vauquelin[1]) eine Mannitbildung in gärendem Zwiebelsaft beschrieben, während Pelouze[2]) auf das Auftreten dieses Stoffes neben Milchsäure und „matière visqueuse" (wahrscheinlich Dextran) in durch schleimige Gärung angegriffenem Rübensaft hingewiesen hat. Dieselbe Gärung wird später auch von Pasteur[3]) beobachtet: in krankem Wein findet er einen Streptokokken, welcher die Gärung hervorrief. Nach diesem Forscher war es die Glukose des Weines, woraus der Mannit entstanden war nach der phantastischen Gleichung:

$$25\ C_6H_{12}O_6 = \underset{\text{Schleim}}{12\ C_6H_{10}O_5} + \underset{\text{Mannit}}{12\ C_6H_{14}O_6} + 6\ CO_2 + 6\ H_2O.$$

Außerdem entstanden dabei Milchsäure, Buttersäure und Alkohol. Die Tatsache, daß in Kulturen mit Kreide kein Mannit entstand, erklärt Pasteur durch den Umstand, daß in neutralen Flüssigkeiten der zuerst gebildete Mannit wieder verbraucht wird. Bei einer solchen, durch Käse, Gluten oder tierische Gewebe eingeleiteten Gärung kann das auch nicht wundernehmen. Nach Pasteur kann aber auch Schleimbildung ohne Mannitbildung vorkommen. Malbot[4]) behauptet das umgekehrte: Mannitbildung ohne Schleim. Dragendorf[5]) erwähnt Mannitbildung bei einer durch Käse eingeleiteten Gärung von Rohrzuckerlösungen. Die dabei erhaltene Milchsäure war sogar von dem auskristallisierten Mannit ganz fest.

Später haben vornehmlich die Weinchemiker sich mit der Mannitgärung beschäftigt. Kramer[6]) isolierte ein schleim- und mannitbildendes Stäbchen (B. viscosus vini), Carles[7]) erwähnt eine reine Mannitgärung

---

1) Ann. chim. phys. **65**, 1807, S. 161.

2) Ibidem **52**, 1833.

3) Etudes sur le Vin und Comptes Rendues **45**, 1857, S. 913.

4) Bull. Soc. Chim. [3], **11**, 1894, S. 87, 176, 413.

5) Arch. de Pharm. **215**, 1879, S. 47.

6) Zentr. f. Bakt., II. Abt., **8**, 1890, S. 77.

7) Comptes Rendues **112**, 1891, S. 811.

in algerischem Weine. Als die Ursache dieser Krankheit nennt er die Hinzugabe von Feigen, während Jégou[1]) und Roos[2]) auch Mannit finden in Weinsorten, welche von Gegenden, wo keine Feigen zu finden sind, herrühren. Péglion[3]) beschreibt ein Bakterium aus italienischem Weine, welches bei Luftabschluß neben Gas, Essigsäure, Propionsäure, Buttersäure und Milchsäure auch Mannit bildet.

Es tritt also oft die Mannitbildung neben der Milchsäurebildung auf, und es läßt sich vermuten, daß dies auch der Fall wäre bei denjenigen der oben genannten Prozesse, wo es nicht ausdrücklich betont wurde. Es sind eben von allen bisher bekannten Bakterienarten die Milchsäurebakterien die einzigen, welche diese Reduktion zeigen. Sind aber auch alle aktive Milchsäurebakterien dazu befähigt? Wie oben dargetan, gibt Pasteur eine Gleichung, worin neben dem Mannit auch Kohlensäure auftritt, und auch Duclaux[4]) hat später die Bildung des Mannits mit der Kohlensäurebildung in Verbindung gebracht. Letzterer gibt dafür die Gleichung:

$$13\ C_6H_{12}O_6 + 6\ H_2O = 12\ C_6H_{14}O_6 + 6\ CO_2,$$

welche sich in die beiden folgenden spalten läßt:

$$C_6H_{12}O_6 + 6\ H_2O = 6\ CO_2 + 12\ H_2$$
$$12\ C_6H_{12}O_6 + 12\ H_2 = 12\ C_6H_{14}O_6.$$

Es lag also die Frage nahe, ob es wirklich nur die gasbildenden Milchsäurebakterien seien, welche zur Mannitbildung befähigt sind, und ob auch alle gärenden Arten diese Eigenschaft zeigen. Nach Beijerinck würde diese allgemeine Regel nicht zutreffen, denn er sagt ausdrücklich[5]), daß alle „aktiven" Milchsäurebakterien zu dieser Reduktion befähigt seien. In der Literatur findet man, wie gesagt, tatsächlich die Mannitbildung neben der Milchsäuregärung sehr oft erwähnt. Es handelte sich dabei aber meistens um Gemische vieler Arten, und der Beweis wurde nicht geliefert, daß es gerade die Milchsäurebakterien waren, welche zu der Mannitbildung Veranlassung gaben. Nur in zwei Fällen, nämlich beim „Ferment mannitique" von Gayon und Dubourg (loc. cit.) und den Weinbakterien von Müller-Thurgau und Oster-

---

[1]) J. de Pharm. et de Chim. (5) **27**, 1893, S. 405.

[2]) Ibidem (5) **28**, 1893, S. 103.

[3]) Zentr. f. Bakt., II. Abt., **4**, 1898, S. 473.

[4]) Traité de Microbiologie IV, S. 122.

[5]) Arch. Néerl. (2) VI, 1901, S 219; Versl. kon. Akad. Amsterdam, 1907—1908, S. 886; Folia Microbiologica, 1912, S. 395.

walder[1]) läßt sich aus den Beschreibungen schließen, daß es sich dabei tatsächlich um solche handelt, und so gehen auch in diesen Fällen Mannit- und Kohlensäurebildung Hand in Hand. Eine Ausnahme wird aber von den letztgenannten Forschern erwähnt: sie behaupten nämlich, daß von Saccharobacillus pastorianus var. berolinensis (Henneberg) kein Mannit gebildet werde, wohl aber Kohlensäure. Sie haben aber zum Nachweis des Mannits die sehr unzulängliche Methode von Gayon und Dubourg[2]) benutzt, so daß diese Frage noch nicht als erledigt zu betrachten ist. Noch weniger wahrscheinlich wird die Richtigkeit der Behauptung von Müller-Thurgau und Osterwalder, wenn man bedenkt, daß der so nahe verwandte Saccharobacillus pastorianus (van Laer) nach meinen eigenen Erfahrungen (siehe unten) wohl Mannit bildet.

Ich habe darum noch einige Arten von aktiven Milchsäurebakterien in dieser Richtung untersucht. Dazu wurden die jungen Reinkulturen in eine Lösung von 10 g Lävulose in 200 ccm Hefewasser geimpft, mit einem Überschuß $CaCO_3$. Nach der Vergärung überzeugte ich mich von der Anwesenheit des Mannits nach einer Methode, welche, kurz gefaßt, folgende war[3]): nach Erhitzung mit Kalkmilch wurde die eingetrocknete Flüssigkeit mit Alkohol ausgezogen, und dieser Auszug von Milchsäure und Alkohol befreit. Die erhaltene wässerige Lösung wurde nach Entfärbung eingedampft. Dabei zeigt sich der Mannit in charakteristischen Kristallen. Bei Abwesenheit derselben wurde versucht, ob die wässerige Lösung imstande sei, mit Kupfersulfat und Natronlauge eine tiefblaue Lösung zu geben (eine Eigenschaft, welche allen mehrwertigen Alkoholen gemeinsam ist). War das nicht der Fall, so durfte die Abwesenheit des Mannits als erwiesen betrachtet werden.

Nach dieser Methode wurden untersucht:

1. Bacillus Delbrücki. (Eine Reinkultur verdanke ich der Freundlichkeit des Herrn Dr. Henneberg-Berlin.) Mannit wurde nicht gebildet. Bekanntlich fehlt auch die Kohlensäure. Ein Versuch mit dem oben beschriebenen „Lactobacillus Delbrücki“ ergab das nämliche Resultat.
2. Saccharobacillus Pastorianus (van Laer). Herr Prof. van Laer hatte die Liebeswürdigkeit mir eine Kultur dieser

[1]) Zentr. f. Bakteriologie, II. Abt., **36**, 1912, S. 129.

[2]) Siehe darüber meine Dissertation und Z. f. Anal. Ch. **53**, 1914, S. 473.

[3]) Die Anwendbarkeit und Genauigkeit dieser Methode habe ich in meiner Dissertation (Amsterdam 1913) und in der Z. für Anal. Ch. **53**, 1914, S. 473, dargetan.

Bakterie zu übersenden. Sie gehört zu den gärenden Milchsäurebakterien. Unter den Produkten aus Lävulose fand sich Mannit vor[1]).

3. Bacillus lactis acidi (Leichmann). Diese Art wurde aus Milch isoliert, die bei 45° gesäuert worden war. Dieser Stamm erregte bei 40° eine schnelle und homogene Gerinnung der Milch (Säuregrad 15,5 ccm Normallauge pro 100 ccm). Kohlensäure und Mannit fehlen unter den Produkten aus Lävulose.
4. Lactococcus lactis (Bacterium lactis acidi Leichmann). Eine Reinkultur erhielt ich aus spontan gesäuerter Milch. Kohlensäure und Mannit fehlen.
5. Bacillus bulgaricus. Eine Reinkultur wurde aus einem Yoghurt-Präparat des Handels isoliert auf Molkenagar mit 1 % Glukose (40°). Darauf wächst diese Art in Fäden von außerordentlicher Länge (200 μ und mehr). In Milch wird etwa 25 μ erreicht. Mannit und Kohlensäure werden nicht gebildet.
6. Aus demselben Yoghurt-Präparat wurde ein Milchsäurestreptococcus isoliert. Gleiches Resultat.
7. Streptococcus hollandiae (die Mikrobe der „langen Wei"). Eine Reinkultur davon verdanke ich Herrn Prof. Beijerinck. Auch hier fehlen Mannit und Kohlensäure.
8. Lactococcus dextranicus (Beijerinck). Es sind dies die Lactokokken, welche unter dem Namen der Leuconostoc mesenterioïdes allgemein bekannt sind. Sie erzeugen aus Rohrzucker Dextran. Die Anhäufung dieser Art ist von Beijerinck[2]) ausführlich beschrieben worden. Es wird dort auch die Bildung von Mannit neben Kohlensäure erwähnt. Ich habe dasselbe oft bestätigen können.

Es scheint also ein auffallender Parallelismus zu bestehen zwischen Mannit- und Kohlensäurebildung. Duclaux hat diese Beziehung in den schon genannten Gleichungen festgelegt. Darin wird eine intermediäre Wasserstoffbildung angenommen, welche die Reduktion der Lävulose veranlaßt. Die Frage bleibt dabei unbeantwortet, welcher Vorgang bei der Vergärung der übrigen Zuckerarten angenommen werden muß: da-

---

[1]) Die Mitteilung Hennebergs (Gärungsbakt. Praktikum, S. 480), daß Wachstum stattfinde in Hefewasser und daß Mannit gesäuert wird, konnte ich an diesem authentischen Stamme nicht bestätigen. In Anbetracht der Mannitbildung erregt letztere Behauptung einigen Zweifel.

[2]) Folia microbiologica, Bd. 1, 1912, S. 377.

bei bildet sich ebenfalls Kohlensäure, aber von einem, dem Mannit ähnlichen Reduktionsprodukt oder von freiem Wasserstoff keine Spur. Es liegt dann zuerst der Gedanke nahe, daß die Vergärung der Glukose usw. anderes verläuft als diejenige der Fruktose. Die qualitative Analyse unterstützt diese Annahme, indem sowohl bei dem Ferment mannitique wie beim L. fermentum der Alkohol unter den Produkten der Fruktose fehlt. Die quantitative Analyse ergab für L. fermentum folgendes[1]:

	Glukose	Lävulose	Saccharose
Kohlensäure . . .	14,1 %	7 %	17,4 %
Alkohol	16,9 „	— „	16,8 „
Milchsäure	47,1 „	12,3 „	33,7 „
Essigsäure	3,7 „	12,9 „	6,1 „
Ameisensäure . . .	0,1 „	0,2 „	0,1 „
Bernsteinsäure . . .	1,2 „	1,4 „	0,9 „
Mannit	— „	60,1 „	23,8 „
Glyzerin	6,3 „	— „	— „
Bakterien	3,5 „	n. best.	1,7 „
	92,9 %	93,9 %	100,5 %

Man sieht, daß bei der Lävulosegärung die Milchsäure vor der Essigsäure zurückgeblieben ist, und sich auch Kohlensäure in geringen Mengen bildet. Die Saccharose nimmt zwischen beiden Zuckern eine mittlere Stellung ein, gemäß ihrer Zusammensetzung. Aus den zitierten Gleichungen über die Bildung des Mannits läßt sich entnehmen, daß das Verhältnis der Mannit- und Kohlensäuremengen etwa 8,2 betragen müßte. Die von Gayon und Dubourg für das Ferment mannitique erhaltenen Zahlen schwanken zwischen 10,6 und 5,3. Beim L. fermentum finden wir $\frac{60,1}{7} = 8,6$, für das in der Saccharose anwesende Fruktosemolekül $\frac{23,8}{7} = 3,4$. Die Sache steht also kaum fest.

Aus den von ihnen gefundenen Zahlen für Glukose entnehmen Gayon und Dubourg für das Verhältnis zwischen Alkohol und Kohlensäure die Zahl 1,08 in Übereinstimmung mit der alkoholischen Gärung

[1]) Näheres über Methoden usw. siehe meine Dissertation. Ebendort eine neue quantitative Bestimmung des Mannits, siehe auch Chem. Weekblad **10**, 1913, S. 894 und Z. f. anal. Chemie **53**, 1914, S. 473.

(1,04). Der Schluß, den sie daraus ziehen: daß die Kohlensäurebildung die Folge einer Zymasewirkung sein sollte, scheint mir aber ganz unzulässig: es läßt sich nicht einsehen, warum dieses Ferment bei der Vergärung der Fruktose ganz unwirksam sein sollte, während die Hefenzymase die Fruktose gleich stark wie die Glukose angreift. Freilich besteht noch die Möglichkeit einer primären Alkoholbildung, welche dann weiter umgesetzt werden könnte, etwa nach der Gleichung:

$$2\,C_6H_{12}O_6 + C_2H_6O + H_2O = \underset{\text{Essigsäure}}{C_2H_4O_2} + 2\,\underset{\text{Mannit}}{C_6H_{14}O_6}.$$

Damit wäre zugleich die Zunahme der Essigsäure bei der Fruktosegärung erklärt, allerdings nicht die Abnahme der Milchsäure: die Umbildung in Essigsäure ist dafür ein nicht wahrscheinlicher Ausweg.

Quantitativ würde obige Gleichung ein Verhältnis $\frac{\text{Mannit}}{\text{Alkohol}} = 4$ erfordern. Nimmt man an, daß gleich viel Alkohol primär gebildet werde wie aus Glukose, also 16,9% des vergorenen Zuckers, so ist das gefundene Verhältnis $\frac{60{,}1}{16{,}9} = 3{,}56$. Die Übereinstimmung ist nicht gerade schön.

Indessen wäre vielleicht auf dem Papier eine andere Gleichung zu finden, welche den gefundenen Zahlen besser entspräche, aber diese sowohl wie jene würde viel zu weit führen auf dem Wege der reinen und unbeweisbaren Hypothesen, und es bleibt also vorläufig eine offene Frage, ob wirklich die Kohlensäure bei der Fruktosegärung auf andere Weise entstanden sei als bei den übrigen Zuckerarten. Mir scheint, daß diese Frage verneint werden müsse, womit dann aber eine neue Erklärung der Mannitbildung nötig wäre: es würden damit die Gleichungen Duclaux's hinfällig werden. Auch für die oben gegebene Gleichung fehlt vorläufig jeder Grund.

Fragt man, ob etwa ein Grund vorhanden sei, warum die Fruktose auf anderem Wege als die übrigen Zuckerarten vergoren werden sollte, so müßte man auch diese Frage verneinen. Die Keto-Struktur dieses Zuckers kann nicht die alleinige Ursache seiner Sonderstellung sein, da erstens die chemische Reduktion (z. B. durch Na-Amalgam) die Ketozucker nicht zu bevorzugen scheint, eine außerordentliche Reduzierbarkeit also nicht durchweg vorhanden ist, zweitens da andere Ketosen, wie die Sorbose, bei ihrer Vergärung kein dem Mannit ähnliches Reduktionprodukt liefern. Die Sorbose wird von L. fermentum nicht, vom

Ferment mannitique wohl angegriffen, und verhält sich dabei wie die Glukose, und bildet dagegen keinen Sorbit.

Dem Obengesagten kann man entgegenhalten, daß doch bei den Essigbakterien eine gewisse Beziehung zwischen den Alkoholen und den Ketozuckern nicht zu verkennen sei: es werden Mannit und Sorbit durch gewisse Essigbakterien zu Fruktose und Sorbose oxydiert, während aus Glukose Glukonsäure gebildet wird[1]. Es besteht also tatsächlich ein gewisser Antagonismus zwischen den Keto- und den Aldozuckern, aber die Sonderstellung der Fruktose neben der Sorbose, was die Reduktion durch das Ferment mannitique betrifft, wird damit nicht aufgehoben.

Es steht also die Frage der Mannitbildung m. E. noch ungelöst da. Nichtsdestoweniger bleibt die Tatsache interessant, daß zur Mannitbildung nur diejenigen aktiven Milchsäurebakterien befähigt sind, welche zugleich Kohlensäure bilden, und daß der Alkohol unter den Gärungsprodukten fehlt, während die Milchsäure zugunsten der Essigsäure stark abnimmt.

Hoffentlich wird durch Prüfung mehrerer Milchsäurebakterien auf ihre Mannitbildung für die Frage nach dem Verhältnis zwischen Kohlensäure und Mannitbildung und für die Mannitfrage überhaupt, mehr Material herbeizuschaffen sein.

---

[1]) Siehe darüber: G. Bertrand, Ann. chim. phys. (8) **3**, 1904, S. 181; A. J. Watermann, Chem. Weekblad **10**, 1913, S. 718.

Literaturliste der im 1. Halbjahre 1914 erschienenen Arbeiten auf dem Gebiete der landwirtschaftlichen Bakteriologie.

Von Professor Dr. **F. Löhnis.**

A. Allgemeines.

Cunningham, A. Note on the plase method for enumeration of bacteria. Journ. Hyg., **13**, 1914, S. 433—437.

Kayser, E. Microbiologie agricole. 3. éd. 1914, Paris, J. B. Baillière et fils, 572 S., m. 95 Abb.

Kossowicz, A. Lehrbuch der Chemie, Bakteriologie und Technologie der Nahrungs- und Genußmittel. 1914, Berlin, Gebrüder Borntraeger. 547 S., m. 225 Abb.

Reed, H. S. A laboratory manual for agricultural and domestic science students. Ginn & Co., Boston, XII + 179 S., 1914.

Rothert. Über den Einfluß der Aussaatstärke auf das Resultat bei Bakterienzählungen mittels Plattenkulturen. Zeitschr. f. Gärungsphysiol., **4**, 1914, S. 1—10.

B. Futtermittel- und Molkerei-Bakteriologie.

Anzinger, A. Die Alkoholreaktion der Milch. Molk.-Zeitg., Hildesheim, **28**, 1914, S. 457—459.

Ayers, S. H. The present status of pasteurisation. Amer. Journ. of Publ. Health, **4**, 1914, S. 15—19.

— and **Johnson, W. T.** The destruction of bacteria in milk by ultra-violet rays. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **40**, 1914, S. 109—131, m. 4 Fig.

Bahr, L. Einige Milchuntersuchungen mit besonderer Berücksichtigung des Wertes der Rosolsäurealkohol-Probe. Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhyg., **24**, 1914, S. 228, 251.

Breed, R. S. Cells in milk derived from the udder. New York Agric. Exp. Stat. Bull., **380**, 1914, S. 139—200.

Brew, J. D. A comparison of the microscopical method and the plate method of counting bacteria in milk. New York Agric. Exp. Stat. Bull., **373**, 1914, 38 S., m. 1 Taf. u. 2 Fig.

Christeller, E. Zur Variabilität des Bacillus bulgaricus. Zeitschr. f. Hyg., **77**, 1914, S. 45—48.

Cohendy, Mich. et **Wollman, E.** Expériences sur la vie sans microbes. Elevage aseptique de cobayes. Compt. rend. Académie Paris, **158**, 1914, S. 1283—1284.

Currie, J. N. Flavor of Roquefort cheese. Journ. Agric. Research, **2**, 1914, S. 1—14.

Devarda, A. Welchen Wert hat die Alizarolprobe für die Untersuchung der Milch zum Zwecke der Marktkontrolle? Milchw. Zentralbl., **43**, 1914, S. 154—158.

Dons, R. Zur Beurteilung der Reduktase- (Gärreduktase-)Probe. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **40**, 1914, S. 132—153.

Dornic, Daire et **Vigneret.** Épuration et utilisation des eaux résiduaires de laiterie. Rev. genér. du lait, **9**, 1914, S. 505—519, m. 1 Fig.

Ehrlich, F. und **Lange, Fr.** Zur Kenntnis der Biochemie der Käsereifung. I. Über das Vorkommen von p-Oxyphenyläthylamin im normalen Käse und seine Bildung durch Milchsäurebakterien. Biochem. Zeitschr., **63**, 1914, S. 156—169.

Eldredge, E. E. and **Rogers, L. A.** The bacteriology of cheese of the Emmental Type. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **40**, 1914, S. 5—21, m. 5 Fig.

Evans, A. C. and **Hastings, E. G.** A study of the bacteria concerned in the production of the characteristic flavor in cheese of the Cheddar type. Science [N. S.], **39**, 1914, S. 800.

— — and **Hart, E. B.** Bacteria concerned in the production of the characteristic flavor in cheese of the Cheddar type. Journ. Agric. Research, **2**, 1914, S. 167—192.

Geisse, A. Erzielung pathogener Eigenschaften bei saprophytischen Staphylokokken. Zeitschr. f. Hyg., **77**, 1914, S. 482—489.

Gironcourt, G. de. Sur les ferments du lait chez les Tonareg. Compt. rend. Acad. Paris, **158**, 1914, S. 737—740.

Goodrich, G. W. Comparison of the plating and microscopic methods in the bacteriological examination of milk. Journ. Infect. Diseases, **14**, 1914, S. 512—519.

Gorini, C. L'influenza della temperatura sulla microflora del fieno. Fieni lattici e fieni buttirici. Atti R. Accad. Lincei, Roma. [5], **23**, 1914, I, S. 984—988.

— L'alimentazione delle vaccine e la produzione igienica del latte. R. Istit. Lombardo di scienze e lett. Rendic., **47**, 1914, S. 288—294.

— Ricerche batteriologiche sui foraggi conservati nei silos. Relazione settima. Ann. d. Istitut. Agrar. Ponti., **11**, 1914 (S. A.).

Gratz, O. und **Szanyi, St.** Beteiligen sich bei den Hartkäsen die Enzyme der Rindenflora an der Käsestoff- und Fettspaltung des Käseinnern? Biochem. Zeitschr., **63**, 1914, S. 436—478.

Hart, E. B., Hastings, E. G., Flint, E. M. and **Evans, A. C.** Relations of the action of certain bacteria to the ripening of cheese of Cheddar Type. Journ. Agric. Research, **2**, 1914, S. 193—216.

Heinze, B. Über die Einsäuerung von Futterstoffen unter Berücksichtigung von Impfungen mit geeigneten Milchsäurebakterien-Zuchten. Jahresber. Ver. f. angew. Botanik, **11**, 1913 (ersch. 1914), S. 142—167.

Henneberg, W. Wie ist bei der Einsäuerung der Kartoffeln zu verfahren und welche Einrichtungen sind dazu nötig? Mikrobiologische Grundsätze. Zeitschr. f. Spiritusind., **37**, 1914, S. 141.

Höyberg, M. Ist die Reduktaseprobe eine wertvolle Probe im Dienste der Milchkontrolle? Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhyg., **24**, 1914, S. 107.

Klunker. Über biorisierte Milch. Molk.-Ztg., Hildesheim, **28**, 1914, S. 625—626, 639—640.

Koning, J. C. en **Mooij, W. C.** De geschiedenis van den yoghurt en de controle op zijn samenstelling. Pharm. Weekblad, **51**, 1914, S. 612—617, 628—633, 651—663, 697—707, 716—722, m. 1 Taf.

Kooper, W. D. Die Titration der Milch mit Alkohol verschiedener Konzentration. Molk.-Ztg., Hildesheim, **28**, 1914, S. 715—716.

— Hygienische Milchgewinnung. Molk.-Ztg., Hildesheim, **28**, 1914, S. 809—810.

Lamson, R. W. Inexpensive aids in producing sanitary milk. Maryland Agric. Exper. Stat. Bull., **181**, 1914, S. 135–154.

Lindet. Épuration des eaux résiduaires de laiterie. Bull. Soc. Nat. d'Agric. de France, **74**, 1914, S. 510–517.

Löhnis, F. Untersuchungen über den Keimgehalt der in Leipzig im Handel befindlichen Milchsorten. Milchw. Zentralbl., **43**, 1914, S. 9—15.

— Über das Biorisator-Verfahren und die Enzyma-Milch. Milchw. Zentralbl., **43**, 1914, S. 59—61.

— Die Titration der Milch mit Alkohol von verschiedener Konzentration. Molk.-Ztg., Hildesheim, **28**, 1914, S. 153–155.

— Untersuchungen über das vorzeitige Gerinnen der Milch an Gewittertagen. Molk.-Ztg., Hildesheim, **28**, 1914, S. 785—786.

Lyall, A. W. On the classification of the streptococci. Journ. Medic. Research., **30**, 1914, S. 487–513.

Mayer, S. Weitere Beiträge zum Studium über Heugärung. Diss. med., Würzburg, 1914.

Mazé, P. L'affinage des fromages moisis et les ferments qui y président. Journ. d'agric. prat., **78**, 1914, I, S. 44—47.

— Fromages à pâte molle. Accidents de fabrication. Journ. d'agric. prat., **78**, 1914, I, p. 528—532.

— Les microbes dans les industries du lait et particulièrement dans l'industrie du beurre. L'Industrie Laitière, **39**, 1914, S. 389—392, 403—405, 420—422, 437 bis 441, 451—453.

Meyer, D. Die Einsäuerung der Kartoffeln mittels Milchsäure-Reinkulturen. Ill. landw. Zeitg., **34**, 1914, S. 200.

— Ein Einsäuerungsversuch mit Rübenschnitzeln unter Verwendung von Milchsäurebakterien. Ill. landw. Zeitg., **34**, 1914, S. 407.

Noack, O. G. Biorization of milk. Americ. Veterin. Review, **45**, 1914, S. 558—561.

Remy, Th. und **Weiske, F.** Einsäuerungsversuche mit Vindobona-Pülpe. Deutsche Zuckerind., **39**, 1914, S. 439—442.

Rogers, L. A., Clark, W. M. and **Davis, B. J.** The Colon group of bacteria. Journ. Inf. Diseases, **14**, 1914, S. 411–475.

— and **Dahlberg, A. O.** The origin of some of the streptococci found in milk. Journ. Agric. Research, **1**, 1914, S. 491—511.

Russell, H. L. Pasteurized milk cheese. Wisconsin Agric. Exper. Stat. Bull., **240**, 1914, S. 39—40.

S., F. Il valore del concetto di virulenza nella fermentazione lattica dei formaggi. L'Ind. latt. e zootecn., **12**, 1914, S. 179.

Samarani, F. I rendimenti in acido lattico nella fermentazione lattica dei formaggi. L'Industria latt. e zootecn., **12**, 1914, S. 132—133.

Spieckermann, A. Die Zersetzung der Fette durch höhere Pilze. II. Der Abbau der Fettsäuren. Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußm., **27**, 1914, S. 83—113.

Stetter, A. Über Katalase- und Reduktasebestimmung von Kuhmilch in der Praxis und über Beziehungen zwischen Katalase und Reduktase einerseits und spezifischem Gewichte, Fett und Azidität andererseits. Milchw. Zentralbl., **43**, 1914, S. 369—381.

Thöni, J. Untersuchungen über die hygienisch-bakteriologische Beschaffenheit der Berner Marktmilch mit Berücksichtigung des Vorkommens von Tuberkelbazillen. Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Orig., **74**, 1914, S. 11—69.

Tillmans, J., Splittgerber, A. und **Riffart, H.** Über die Bestimmung des Ammoniakgehaltes der Milch. Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußm., **27**, 1914, S. 58—76.

Ulrich, Chr. Biorisator-Verfahren nach Dr. Lobeck zur Herstellung einer einwandfreien Trinkmilch. Milchw. Zentralbl., **43**, 1914, S. 267—273.

Weigmann, H. Versuche mit dem „Degermator". Mitt. d. Deutsch. Milchw. Ver., **31**, 1914, S. 115—141.

— Versuche mit dem Biorisator. Molk.-Ztg., Hildesheim, **28**, 1914, S. 885—886, 899—901.

— und **Wolff, A.** Neue Beobachtungen über die Entstehung des Steckrübengeschmackes der Butter. Landw. Jahrb., **46**, 1914, S. 343—365.

Wigger, A. Untersuchung über die Bakterienflora einiger Kraftfuttermittel in frischem und gärendem Zustande, mit besonderer Berücksichtigung ihrer Einwirkung auf Milch. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **41**, 1914, S. 1—232.

Wilk, L. Untersuchungen über die Azidität der wichtigsten Handelsfuttermittel. Zeitschr. f. d. landw. Versuchswesen in Österreich, **17**, 1914, S. 231—269.

C. Dünger- und Boden-Bakteriologie.

Barthel, Chr. Die Einwirkung organischer Stoffe auf die Nitrifikation und Denitrifikation in Ackererde. Zeitschr. f. Gärungsphysiol., **4**, 1914, S. 11—48.

— och **Rhodin, S.** Försök med kulturer ar baljväxbakterier för blå lupin och blå luzern. Meddel. Centralanst. för försöksväs. etc., **95**, Bakt. labor. No. **10**, 1914, 32 S., m. 2 Taf.

Beckwith, T. D. and **Vass, A. F.** A possible improvement in the technique of determination of the ammonifying power of soils. Science [N. S.], **39**, 1914, S. 765.

— — and **Robinson, R. H.** Ammonification and nitrification studies of certain types of Oregon soils. Oregon Agric. Exper. Stat. Bull., **118**, 1914, 40 S., m. 30 Abb.

Bedford, The Duke of and **Pickering, S. U.** The effect of one crop upon another. Journ. Agric. Science., **6**, 1914, S. 136—151.

Beesley, R. M. Experiments on the rate of nitrification. Journ. Chem. Soc. London, **105**, 1914, S. 1014—1024.

Beijerinck, M. W. Over het nitraatferment en over physiologische soortvorming Akad. Amsterdam. Verslag d. wis. en natuurkund. Afd., **22**, 1914, S. 1163 bis 1170.

Berthault, Fr. Sur la stérilisation ou desinfection du sol. Journ. d'agric. prat., **78**, 1914, I, p. 523—524.

Bischoff, Adolf. Über die Wirkung einer Strohdüngung unter verschiedenen äußeren Verhältnissen. Journ. f. Landw., **62**, 1914, S. 1—95.

Bottomley, W. B. The bacterial treatment of peat. Journ. R. Soc. Arts, **62**, 1914, S. 373—380.

Brenner, W. Die Stickstoffnahrung der Schimmelpilze. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **40**, 1914, S. 555—647, m. 1 Taf. u. 1 Textfig.

Brown, P. E. and **Kellog, E. H.** Sulfofication in soils. Science [N. S.], **39**, 1914, S. 764.

Clausen. Schädliche Wirkung der Schwefelblüte auf die Fruchtbarkeit des Ackers. Ill. landw. Zeitg., **34**, 1914, S. 52.

Conn, H. J. A new medium for the quantitative determination of bacteria in soil. Science [N. S.], **39**, 1914, S. 763.

— The distribution of bacteria in various soil types. Journ. Americ. Soc. Agron., **5**, 1914, S. 218—221.

Cunningham, A. and **Löhnis, F.** Studies on Soil Protozoa I. The Growth of protozoa on various media and the effect of heat on active and encysted forms. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **39**, 1914, S. 596—610.

Densch und **Arnd.** Zur Frage der schädlichen Wirkung zu starker Kalkgaben auf Hochmoor. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **40**, 1914, S. 83—87.

Ehrenberg, P. Zur Stickstoffsammlung bei dauerndem Roggenbau. Fühlings landw. Zeitg., **63**, 1914, S. 178—179.

Faber, F. C. von. Die Bakteriensymbiose der Rubiaceen. Jahrb. f. wissenschaftl. Botanik, **54**, 1914, S. 243—264, m. 3 Fig.

Fischer, G. Die Säuren und Kolloide des Humus. Diss. phil., Halle, 1914. Kühn-Archiv, **4**, 1914, S. 1—136, m. 4 Abb.

Fischer, Herm. Über die Gefahren der bakteriellen Salpeterzerstörung auf dem Felde. Fühlings landw. Ztg., **63**, 1914, S. 244—252.

Gainey, P. L. Effect of CS_2 and toluol upon nitrification. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **39**, 1914, S. 584—595.

Goodey, T. A preliminary communication on three new Proteomyxan rhizopods from soil. Arch. f. Protistenkde, **35**, 1914, S. 80—102, m. 4 Taf.

Greaves, J. E. A study of the bacterial activities of virgin and cultivated soils. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **41**, 1914, S. 444—459.

Headden, W. P. The excessive quantities of nitrates in certain Colorado soils. Journ. Ind. and Eng. chem., **6**, 1914, S. 586—590.

Hoffmann, C. Influence of soil bacteria on plant growth. Wisconsin Agric. Exper. Stat. Bull., **240**, 1914, S. 19—21, m. 1 Abb.

Jones, D. H. Further studies with some Azotobacter. Science [N. S.], **39**, 1914, S. 765.

Kellermann, K. F. and **Smith, N. R.** The absence of nitrate formation in cultures of Azotobacter. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **40**, 1914, S. 479—482.

— and **Wright, R. C.** Relation of bacterial transformation of soil nitrogen to nutrition of citrus plants. Journ. Agric. Research, **2**, 1914, S. 101—113.

Klaeser, M. Reduktion von Nitraten zu Nitriten und Ammoniak durch Bakterien. Ber. dtsch. bot. Ges., **32**, 1914, S. 58—61.

— Die Reduktion von Nitraten zu Nitriten und Ammoniak durch Bakterien. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **41**, 1914, S. 365—430.

Klimmer, M. und **Krüger, R.** Sind die bei den verschiedenen Leguminosen gefundenen Knöllchenbakterien artverschieden? Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **40**, 1914, S. 256—265.

Köck, G. Die Verwendung von Knöllchenbakterien zu Leguminosen. Monatshefte f. Landw., **7**, 1914, S. 24—27.

Kossowicz, A. Zur Frage der Assimilation des elementaren Stickstoffs durch Hefen und Schimmelpilze. Biochem. Zeitschr., **64**, 1914, S. 82.

Lipman, C. B. and **Burgess, P. S.** The effect of copper, zinc, iron and lead salts on ammonification and nitrification in soils. Univ. Calif. Public. Agric. Sciences, **1**, 1914, S. 127—139.

— — Studies on ammonification in soils by pure cultures. Univ. Calif. Public. Agric. Sciences, **1**, 1914, p. 141—172.

— — Antagonism between anions as affecting soil bacteria. II. Nitrification. Centralbl. f. Bact., II. Abt., **41**, 1914, S. 430—444, m. 6 Curven.

Löhnis, F. and **Green, H. H.** Über die Entstehung und die Zersetzung von Humus, sowie über dessen Einwirkung auf die Stickstoff-Assimilation. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **40**, 1914, S. 52—60.

— — Methods in soil bacteriology. VII. Ammonification and nitrification in soil and solution. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **40**, 1914, p. 457—479.

Löhnis, F. und **Smith, J. H.** Die Veränderungen des Stalldüngers während der Lagerung und seine Wirkung im Boden. Fühlings landw. Zeitg., **63**, 1914, S. 153—167.

Lumia. Azione dei concimi minerali sull' attività di microorganismi del terreno. Atti R. Accad. Lincei, Roma [5], **23**, 1914, I, S. 738—746.

Lyon, T., Bizzell, I. A. and **Conn, H. J.** An examination of some more productive and some less productive sections of field. Cornell Stat. Bull., **338**, 1913, S. 51—115, m. 12 Fig.

Mameli, E. et **Pollacci, G.** Note sur l'assimilation directe de l'azote atmosphérique libre. Annal. de la science agron. [4], **3**, 1914, S. 123—142.

Martin, C. H. and **Lewin, K. R.** Some notes on soil protozoa. Phil. Transact. R. Soc., London [B], **205**, 1914, S. 77—94, m. 2 Taf.

May, F. von. Der Einfluß des Strohes auf die Ausnutzung des organischen Dünger-Stickstoffes. Mitt. d. Hochschule f. Bodenkultur, Wien, **2**, 1914, S. 433—454.

Mc Beth, J. G. and **Smith, N. R.** The influence of irrigation and crop production on soil nitrification. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **40**, 1914, S. 24—51, m. 6 Fig.

Miller, F. Über den Einfluß des Kalkes auf Bodenbakterien. Zeitschr. f. Gärungsphys., **4**, 1914, S. 194—206.

Montanari, C. Azione degli elementi oligodinamici sui batteri della nitrificazione (1. Nota). Staz. sperim. agrar. ital., **47**, 1914, S. 441—448.

Mooers, C. A. The effect of ensilage fermentation and animal digestion on the solubility of phosphoric acid in phosphate rock. Journ. Ind. and Eng. Chem., **6**, 1914, S. 487—488.

Münter, F. Über Stickstoffumsetzungen einiger Aktinomyzeten. II. Mitt. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **39**, 1914, S. 561—583, m. 3 Fig.

Niklewski, Br. Über die Wasserstoffaktivierung durch Bakterien unter besonderer Berücksichtigung der neuen Gattung Hydrogenomonas agilis [IV] (Jubil.-Schrift f. Prof. Dr. E. Godlewski sen., Krakau). Orig. Ref. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **40**, 1914, S. 430.

Ollech, v. Die Lebewelt des Bodens, das „Edaphon". Deutsche landw. Presse, **41**, 1914, S. 718—719.

Primm, R. R. Bacterial digestion of fiber or cellulose. Wisconsin Agric. Exper. Stat. Bull., **240**, 1914, S. 21—22, m. 1 Abb.

Pringsheim, H. Zur Stickstoffassimilation in Gegenwart von Salpeter. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **40**, 1914, S. 21—23.

— Neue Untersuchungen über Bodenbakterien und die den Luftstickstoff assimilierenden Bakterien. Medic. Klinik, 1914, S. 208.

Quisumbing, F. and **Ocfemia, G.** Some chemical and bacteriological effects of clearing grass land by burning. Philippine Agr. and Forester, **3**, 1914, S. 76 bis 78, ref. Exp. Stat. Rec., **31**, S. 721.

Räuber, A. Über die Häufigkeit der Bakterien im Waldboden und den Einfluß der Bodenart auf ihre Entwicklung. Forstwissenschaftl. Centralbl., **36**, 1914, S. 195—208.

Ritter, G. E. Ammonitrat und freie Salpetersäure als Stickstoffquelle für Schimmelpilze. Biochem. Zeitschr., **60**, 1914, S. 370—377.

Russell, E. J. The nature and amount of the fluctuations in nitrate contents of arable soils. Journ. Agric. Science, **6**, 1914, S. 18—57, m. 2 Fig.

— Third report on the partial sterilization of soils for glasshouse work. Journ. Board Agric., **21**, 1914, S. 97—116.

Sackett, W. G. The nitrifying efficiency of certain Colorado soils. Colorado Stat. Bull., **193**, 1914, S. 3—43, m. 3 Fig., ref. Exp. Stat. Rec., **30**, S. 818.

Schroeder, H. The bacterial content of coal. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **41**, 1914, S. 460—469, m. 4 Fig.

Simon, J. Über das Impfen der Hülsenfrüchte. Deutsche landw. Presse, **41**, 1914, S. 311.

— Über die Verwandtschaftsverhältnisse der Leguminosen-Wurzelbakterien. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **41**, 1914, S. 470—479.

— Bedeutung der Bodenbakterien für die Ernährung unserer Kulturpflanzen. Sächs. landw. Presse, 1914, S. 205, 224, 239, 263.

Skinner, J. J. and **Sullivan, M. X.** The action of manganese in soils. U. S. Dept. Agric. Bull., **42**, 1914, 32 S.

Söhngen, N. L. Umwandlungen von Manganverbindungen unter dem Einfluß mikrobiologischer Prozesse. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **40**, 1914, S. 545—554, m. 3 Taf.

Sullivan, M. X. Nitrates in Colorado soils. Journ. Ind. and Eng. Chem., **6**, 1914, S. 532—533.

Temple, J. C. Nitrification in acid or non-basic soils. Georgia Agric. Exp. Stat. Bull., **103**, 1914, 15 S.

Traaen, A. E. Untersuchungen über Bodenpilze aus Norwegen. Nyt Magazin f. Naturvidensk., **52**, 1914, I, S. 20—121, m. 1 Taf.

Vogel, J. Die Einwirkung von Schwefel auf die bakteriellen Leistungen des Bodens. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **40**, 1914, S. 60—83.

— Beitrag zum Verhalten durch Erhitzen sterilisierter Erde. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **40**, 1914, S. 280–284.

Wagner, Rich. Über Benzol-Bakterien. Zeitschr. f. Gärungsphysiol., **4**, 1914, S. 289—319.

Referate.

Scales, F. M. The enzymes of Aspergillus terricola. Journ. Biol. Chem. **19**, 1914, S. 459—472.

Wie andere Pilze bildet auch Aspergillus terricola viel verschiedenartige Enzyme in beträchtlichen Mengen, die für die Umsetzungen im Boden sicher von Bedeutung sind. Die entstehenden Produkte stellen oft eine wertvolle Nahrung für die Erd-Bakterien dar. Zellulase fehlt, doch wird bei der Kultur des Pilzes auf Zellulose-Agar ein wenig Zellulose hydrolysiert. Bindung des elementaren Stickstoffs konnte nicht nachgewiesen werden.

Löhnis.

Feilitzen, Hj. und **Nyström, E. Neue Impfversuche auf jungfräulichem Hochmoorboden mit verschiedenen Leguminosenbakterienkulturen.** Journ. f. Landw. **62**, 1914, S. 285—292.

Azotogen wirkte (bei gelben Lupinen) am besten. An zweiter Stelle folgte Nitragin-Erdkultur und erst an dritter Impferde. Farmogerm blieb fast ohne Wirkung.

Löhnis.

Cohendy, M. et **Wollman, E. Expériences sur la vie sans microbes. Elevage aseptique de cobayes.** Compt. rend. Acad. Paris **158**, 1914, S. 1283—1284.

Steril geborene und gehaltene Meerschweinchen zeigten während einer einmonatlichen Versuchsdauer normale Entwicklung. Genaue Angaben über die gereichte Nahrung fehlen, doch wird erwähnt, daß die Zellulose-Menge in den Exkrementen der sterilen und der keimhaltigen Versuchstiere ungefähr gleich gewesen ist. Löhnis.

Conn, H. J. The distribution of bacteria in various soil types. Journ. Amer. Soc. Agron. **5**, 1914, S. 218—221.

Verf. findet auch seinerseits, daß die Untersuchung von selbst sehr verschiedenartigen Böden mit Hilfe der Gußkulturmethode „sowohl quantitativ wie qualitativ überraschend wenig Differenzen“ ergibt. Von der Gesamtzahl waren ca. 50 % sporenfreie Stäbchen, 40 % Aktinomyzeten, 5 % Sporenbildner und 5 % Fluoreszenten. Löhnis.

Lint, H. C. The influence of sulphur on soil acidity. Journ. Ind. Engin. Chem. **6**, 1914, S. 747—748.

Schwefeldüngung veranlaßt (in Übereinstimmung mit Befunden Demolons) Sulfat-Bildung und Zunahme der Boden-Azidität. Eine ca. 1000 kg pro ha entsprechende Schwefelgabe war nach 8 Wochen vollständig oxydiert. Auch im Felde selbst war die Aziditäts-Zunahme deutlich nachweisbar, und zwar selbst dann, wenn nur 330 kg pro ha ausgestreut worden waren. Im Sand verlief die Oxydation viel rascher als im Lehm. Löhnis.

Brown, P. E. and **Kellog, E. H. Sulfofication in soils.** Science [N. S.] **39**, 1914, S. 764.

Die je nach der Bodenbeschaffenheit usw. wechselnde Intensität der Sulfatbildung in Erde kann in der Weise ermittelt werden, daß man je 100 g Erde mit 0,1 g Na_2S oder S vermischt, in angefeuchtetem Zustande 4—5 Tage bei Zimmertemperatur aufbewahrt, dann 6 Stunden mit Wasser ausschüttelt und den Gehalt an Sulfaten bestimmt. Löhnis.

Kellerman, K. F. and **Wright, R. C. Relation of bacterial transformation of soil nitrogen to nutrition of citrus plants.** Journ. Agric. Research. **2**, 1914, S. 101—113.

Die in den ariden Böden nicht selten vorkommenden abnorm salpeterreichen Stellen (mit 0,005—0,015 % $NaNO_3$) erweisen sich speziell in Citrus-Plantagen als sehr nachteilig. Durch Unterbringung von Stroh, das die nitratassimilierenden Erdorganismen fördert, kann dem Übel abgeholfen werden. Löhnis.

Bedford, Duke of and **Pickering, S. U. The effect of one crop upon another.** Journ. Agric. Science **6**, 1914, S. 136—151.

Jeder Pflanzenbestand produziert wechselnd nach Bodenbeschaffenheit und Pflanzenart, wahrscheinlich bei der Zersetzung der abgestorbenen Wurzeln, toxische Substanzen, die besonders für die betreffende Pflanzenspezies selbst sehr schädlich sind, aber auch die Entwicklung anderer Arten hemmen können. Später, nach erfolgter Zersetzung (Oxydation) werden diese Toxine in nützliche Substanzen umgewandelt. Die Erscheinungen beim Sterilisieren des Bodens sind z. T. ähnlicher Art. Löhnis.

Sackett, W. G. The nitrifying efficiency of certain Colorado soils. Colorado Agric. Exp. Stat. Bull. **193**, 1914, S. 3—43 m. 3 Abb.

Weil die vom Verf. geprüften Erdproben aus dem Staate Colorado speziell Ammonsalze sehr rasch nitrifizieren, während aus anderen Gegenden stammende Böden den organischen Stickstoff (des Blutmehls) schneller als Ammonsulfat in Salpeter verwandelten, wird erneut behauptet, daß die Colorado-Erden nitrifizierende Organismen enthalten, die von allen andern grundverschieden seien. Der hohe Nitratgehalt der in Colorado beobachteten „niter spots" wird (ebenfalls im Gegensatz zu anderslautenden Feststellungen) erneut erklärt durch eine außergewöhnliche Aktivität Stickstoff fixierender, ammonifizierender und nitrifizierender Mikroben. Löhnis.

Lyon, T. L., Bizzell, J. A. and **Conn, H. J. An examination of some more productive and some less productive section of field.** Cornell Agric. Exp. Stat. Bull. **338**, 1913, S. 51—115 m. 12 Abb.

An den weniger ertragreichen Stellen des Versuchsfeldes besaß der Boden eine kompaktere Struktur. Die Nitrifikation war infolgedessen geringer; sie zeigte an den verschiedenen Stellen ein deren Produktivität analoges Verhalten. Andere bakteriologische Prüfungen ließen, ebenso wie chemische und physikalische Untersuchungen, keine markanten Differenzen erkennen. Löhnis.

Bottomley, W. B. The bacterial treatment of peat. Botanical Journ. **3**, 1914, S. 49—53.

Der durch „gewisse" aërobe Bakterien in „Humat" umgewandelte Torf wurde nach Sterilisation im Dampf mit Azotobacter und B. radicicola geimpft und in Mengen von 10% der Erde beigemischt. In 17 Tagen wurden bei 26° C pro 100 g solcher Erde 54—77 mg Luftstickstoff gebunden. Vegetationsversuche lieferten entsprechend günstige Ergebnisse. Auch der wässerige Auszug des behandelten Humus wirkte günstig. Löhnis.

Lipman, C. B. and Burgess, P. S. Antagonism between anions as affecting soil bacteria. II. Nitrification. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **41**, 1914, S. 430—444 m. 6 Kurven.

Na_2CO_3, Na_2SO_4 und NaCl wirken, wenn sie vereint zugegen sind, nicht hemmend, sondern stimulierend auf die Salpeterbildung in Erde ein. Diese war bei folgenden Kombinationen am höchsten:

NaCl	Na_2SO_4	Na_2CO_3
0,2	0,05	0,025
0,15	0,35	0,025
0,2	0,4	0,05

Diese gegensätzliche Wirkung kann für die Behandlung von Alkaliböden von großer Wichtigkeit werden. Löhnis.

Lipman, Ch. B. and Burgess, P. S. Antagonism between anions as affecting soil bacteria. III. Nitrogen fixation. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **42**, 1914, S. 502—509.

Ganz im Gegensatz zur Ammonifikation und Nitrifikation wird die Stickstoffbindung durch kombinierte Gaben von NaCl, Na_2CO_3 und Na_2SO_4 eher gehemmt, als dies bei Anwendung der einzelnen Salze der Fall ist. Ein Antagonismus der Anionen ist also hier nicht wahrzunehmen. Löhnis.

Rhodin, S. Feldversuche mit schwedischen Kulturen von Leguminosenbakterien. Deutsche landw. Presse **41**, 1914, S. 1016.

Die jetzt (nach Simons Vorgang) auch von Chr. Barthel an der schwedischen „Centralanstalt“ in Erde gezüchteten Leguminosen-Impfkulturen wirkten ebensogut wie das Azotogen. Löhnis.

Pantanelli, E. Elektrolytische Bestimmung der biologischen Bodenaufschließung. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **42**, 1914, S. 439—443.

Bestätigt J. König, daß elektrolytische Messungen gewisse Anhaltspunkte für die Tätigkeit der Erdorganismen liefern, namentlich in bezug auf die Lösung der mineralischen Bodenbestandteile. Auch Beziehungen zur Gesamtkeimzahl der geprüften Erden stellten sich heraus. Diese war namentlich in den mit untersuchten Wüsten- und Salzböden naturgemäß sehr gering. Aktinomyzeten herrschten vor. Löhnis.

Cunningham, A. Studies on soil protozoa. II. Some of the activities of protozoa. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **42**, 1914.

Die Erwärmung von Protozoen-Verdünnungen (in Erdextrakt) auf 58° C tötet wahrscheinlich auch einen Teil der Zysten ab. Zusatz von Ätzkali ist vielleicht vorzuziehen. Immerhin ließ sich jedoch mit hinreichender

Sicherheit feststellen, daß die Protozoen auch dann in der Erde in aktiver Form zugegen sind, wenn deren Wasserkapazität nur zu etwa 70% gesättigt ist. Bei niedriger Temperatur (8° C) herrschen Flagellaten vor. Bei 20° C sind alle 3 Hauptgruppen (Flagellaten, Ciliaten und Amoeben) ungefähr gleich zahlreich vertreten. Eine Temperatur von 30° C sagt den Ciliaten besonders zu. Bei 38° C kamen nur wenig Amoeben zur Entwicklung. Wurden Protozoen in ammonifizierende Lösungen eingeimpft, so wurde die Zahl der Bakterien deutlich herabgesetzt, weniger dagegen die Intensität der Ammoniakbildung. Löhnis.

Martin, C. H. and **Lewin, K. R. Some notes on soil protozoa.** Phil. Transact. R. Soc. London [B] **205**, 1914, S. 77—94 m. 2 Taf.

Amoeben-Systematik und Methodik werden erörtert. 3 neue Arten wurden beschrieben und abgebildet; es sind dies: Vahlkampfia soli, Amoeba cucumis und Amoeba gobannensis. Über die Existenz der Protozoen im trophischen Zustande im Boden soll später berichtet werden. Löhnis.

Conn, H. J. Bacteria of frozen soil. III. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **42**, 1914, S. 510—519.

Es wurde erneut (bei Topf- wie Feldversuchen) konstatiert, daß die Zahl der auf Gelatine zur Entwicklung kommenden Keime während des Winters (speziell im Februar) steigt, namentlich in gut durchlüftetem Boden. Worauf dies zurückzuführen ist, bleibt festzustellen. Löhnis.

Kelley, W. P. The lime-magnesia-ratio: I. The effects of calcium and magnesium carbonates on ammonification. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **42**, 1914, S. 519—526.

Trotzdem die vom Verf. untersuchten Erden von Hawaii verhältnismäßig reich an Magnesium sind, förderte doch $MgCO_3$ die Ammonifikation meist mehr als $CaCO_3$. Nur in einer Reisfelderde wirkte dieses günstiger. Die Ammonifikation von Blutmehl wurde durch $MgCO_3$ in der Regel mehr gefördert als die Ammoniakbildung aus Sojabohnenkuchenmehl. Dolomit wirkte trotz seines Mg-Gehalts ähnlich dem $CaCO_3$. Weitere Versuche über Nitrifikation sollen folgen. Löhnis.

Wojtkiewicz, A. Beiträge zu bakteriologischen Bodenuntersuchungen. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **42**, 1914, S. 254—261.

Erdproben von einem teils gebrachten, teils mit verschiedenen Früchten bestellten Felde wurden untersucht in bezug auf Keimzahl, Stickstoffbindung, Nitrifikation, Denitrifikation, Pepton- und Harnstoffzersetzung. Die Keimzahl war im Frühjahr am höchsten, im Winter am niedrigsten; die Stickstoff-

bindung im Herbst am höchsten, im Winter am niedrigsten, und im Sommer höher als im Frühling. Im Brachlande waren sowohl Keimzahl wie Stickstoffbindung am niedrigsten, unter Kartoffeln am höchsten. Die Nitrifikationsversuche verliefen resultatlos; sie wurden nach einer höchst sonderbaren, von S. M. Bogdanoff empfohlenen Methode angestellt: Erde (ohne Zusatz von Ammonsalz oder dergl.) wird nur 2 Tage aufbewahrt und der Nitratgehalt zu Beginn und am Ende des Versuches verglichen. Die Denitrifikation wurde in Giltay-Lösung geprüft, und zwar wurde nur die Zeit festgestellt, in der das Nitrat verschwand, nicht aber die Menge des in Freiheit gesetzten Stickstoffs. Die beobachteten Unterschiede waren sehr gering; die Herbstproben denitrifizierten am raschesten. Ebenso lieferte die Peptonzersetzung zu dieser Zeit die höchsten Werte. Der Harnstoffabbau erreichte sein Minimum im Sommer. Einige Versuche, auch die Kohlensäureentwicklung in den Kreis der Untersuchungen zu ziehen, lieferten gleichfalls keine markanten Resultate. Feste Beziehungen zur Gesamtkeimzahl bestanden nicht.

Löhnis.

Löhnis, F. and **Green, H. H. Methods in soil bacteriology. VII. Ammonification and nitrification in soil and solution.** Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **40**, 1914, S. 457—579.

In Ergänzung früherer Mitteilungen werden zunächst weitere Versuche über Ammonifikation referiert, durch die u. a. festgestellt wurde, daß die in der Regel wesentlich schwächere Ammoniakbildung aus Blutmehl in wässeriger Aufschwemmung weniger auf die halb anaëroben Bedingungen als vielmehr auf die mangelhafte Verteilung der einzelnen Partikel zurückzuführen ist. Vergleichende Versuche mit Sand und mit Erde zeigten dies sehr deutlich. Manche Blutmehlsorten scheinen außerdem spezifische Substanzen zu enthalten, die besonders in der Lösung die Ammoniakbildung beeinträchtigen.

Weiterhin wurden nochmals diejenigen Bedingungen festgestellt, die für den normalen Ablauf der Nitrifikation von Wichtigkeit sind, die aber gleichwohl sehr häufig nicht die entsprechende Beachtung gefunden haben. In hinreichend flacher Schicht ist die Salpeterbildung ebenso stark wie in (der zur Impfung benutzten) Erde selbst. Dagegen gaben Sandversuche wesentlich niedrigere Resultate, die sicher der fehlenden Ammoniak-Absorption zugeschrieben werden müssen. Speziell müssen die Konzentration der ammoniakhaltigen Lösung, die Reaktion des Substrats, die Lüftung und die Temperatur richtig gewählt bezw. eingestellt werden, wenn einwandfreie Ergebnisse erhalten werden sollen. Wie manche andere, so entsprechen namentlich auch die von Stevens und Withers durchgeführten Experimente, die immer von neuem als maßgebende Beweise gegen die Zuverlässigkeit von in Lösungen angestellten Umsetzungsversuchen zitiert werden, diesen

Forderungen keineswegs; sie können deshalb als beweiskräftig nicht anerkannt werden. In einem kritischen Anhange wird dies an der Hand der verschiedenen Publikationen jener Autoren eingehend dargelegt. Löhnis.

Green, H. H. Investigations into the nitrogen metabolism of soil. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **41**, 1914, S. 577—608.

Die Untersuchungen erstreckten sich auf die Ammoniakbildung aus Fleisch-, Horn-, Blutmehl und aus Cyanamid, auf die Salpeterbildung aus Ammonsulfat und auf die Stickstoffbindung in Mannitlösung. Mit Ausnahme der zuletzt genannten Versuchsreihe wurden die Umsetzungen sowohl in Lösungen wie in Erde verfolgt und durch entsprechende Versuche auf dem Felde kontrolliert. Auf der einen Hälfte des Feldes wurden die Stoppeln sogleich nach der voraufgehenden Ernte umgebrochen.

Diese verschiedene Art der Bodenbearbeitung blieb ohne erkennbaren Einfluß auf die Erdfeuchtigkeit und auf den Verlauf der Stickstoffumsetzungen. Gleichwohl enthielten die Ernten auf jener Hälfte des Feldes ca. 8 kg Stickstoff (pro ha) mehr.

Die Jahreszeit wirkte auf den Abbau des organischen Stickstoffes nur wenig ein. Das Maximum war im April zu verzeichnen. Die Nitrifikation erreichte zwei Höhepunkte, im März und im Oktober; das Minimum im Sommer dürfte auf den von den Erdprotozoen ausgeübten Einfluß zurückzuführen sein. Die Stickstoffbindung war am stärksten im Mai, doch hielt sie sich auch während des Sommers (1913) auf einer bis dahin nicht beobachteten Höhe.

Die Ergebnisse der Lösungsversuche stimmten mit Resultaten des Feld-Düngungsversuches besser überein als die Ergebnisse der Erdversuche, wie folgende Zusammenfassung erkennen läßt.

		Fleischmehl	Hornmehl	Blutmehl	Cyanamid
Ammonifikation und Nitrifikation in % v. Ges.-N	Erdversuche . .	43	37	46	48
	Lösungen . . .	44	19	19	44
Ausnutzung des Dünger-N (in %)	durch die Ernten	24	18,5	17	46,5

Löhnis.

Traaen, A. E. Untersuchungen über Bodenpilze aus Norwegen. Nyt Magazin for Naturvidenskaberne **52**, 1914, I, S. 20—121 m. 1 Taf.

Auf Papier, das mit einer (der von van Iterson vorgeschlagenen ähnlichen) mineralischen Nährlösung befeuchtet war, wurden 120 Pilze aus verschiedenen Erdproben isoliert. Am häufigsten fanden sich folgende 7: Geomyces vulgaris (n. g., n. sp.), Geom. sulfureus (n. sp.), Geom. auratus (n. sp.), Humicola fuscoatra (n. g., n. sp.), Hum. grisea (n. sp.), Trichoderma lignorum (Tode) und Actinomyces spec. Diese Pilze wurden eingehend stu-

diert. Ihr Temperatur-Optimum liegt bei 18—25° C, das Minimum nahe 0°. Die günstigste anorganische Stickstoffquelle stellt für die Geomyces-Arten der Salpeter, für die Humicola-Arten dagegen die Ammonsalze dar. Trauben-, Frucht- und Rohrzucker sowie Stärke erwiesen sich als gute, Xylan und Pektin als schlechte Kohlenstoffquellen. Zellulose wird angegriffen, doch nur sehr langsam. Stickstoffbindung war nicht nachzuweisen. Löhnis.

Hanzawa, J. Einige Beobachtungen über Stickstoffbindung durch Azotobacter in stickstoffarmen und in stickstoffreichen Substraten. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **41**, 1914, S. 573—576.

Zusatz von Salpeter zur Mannitlösung brachte die Stickstoffbindung zum Stillstand, wenn der darin zugeführte Stickstoff 2,5% des Kohlenstoffvorrats gleichkam. Dagegen wirkte Humusstickstoff auch dann nicht hemmend, wenn seine Menge 5% des Kohlenstoffs entsprach. Selbst unter diesen Bedingungen wirkte er noch deutlich fördernd, und weitere Versuche lehrten, daß speziell Stallmist-Humus selbst als Energiequelle fungieren kann.

Löhnis.

Krainsky, A. Die Aktinomyzeten und ihre Bedeutung in der Natur. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **41**, 1914, S. 649—688 m. 2 Taf. u. 4 Textabb.

Nach kritischer Besprechung der Literatur wird zunächst über Anordnung und Ergebnisse von Anhäufungsversuchen berichtet. Ein Actinomyces cellulosae wurde in folgender Lösung erhalten: 50% Leitungswasser, 2 bis 3% Zellulose, 0,05% NH_4Cl, 0,05% K_2HPO_4, in flacher Schicht (im Erlenmeyer-Kolben), reichlich mit Erde geimpft, bei 40° C gehalten. Enthielt die Lösung statt Zellulose 1% Stärke und statt NH_4Cl 0,3% KNO_3, so herrschten Actinomyces coelicolor und A. diastaticus darin vor. Obgleich das Temperatur-Optimum für alle 3 Arten bei 30—35° C liegt, ist doch die höhere Temperatur bei der Anhäufung deshalb vorteilhafter, weil dadurch die Bakterien mehr zurückgedrängt werden. Zur direkten Zählung der Aktinomyzeten in Erde erwies sich Calciummalat-Agar besonders brauchbar. Weiterhin werden Morphologie und Physiologie der Aktinomyzeten behandelt; eine große Zahl neuer Arten wird aufgestellt. Viele von ihnen sind zur Stärkelösung befähigt. Zellulose wird speziell durch folgende Arten angegriffen: Actinomyces roseus, griseus, cellulosae, diastaticus, melanosporus und melanocyclus. Kieselsäureplatten mit Zellulosezusatz bewährten sich zur Isolierung dieser Organismen am besten. Geeignete Stickstoffquellen sind neben den organischen Substanzen sowohl die Ammonsalze wie der Salpeter. Nitrat wird zu Nitrit, nicht aber zu Ammoniak reduziert. In einem die Systematik behandelnden Kapitel werden die neuen Arten ausführlich beschrieben.

Löhnis.

Koch, A. Über die Einwirkung des Laub- und Nadelwaldes auf den Boden und die ihn bewohnenden Pflanzen. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **41**, 1914, S. 545—572 m. 4 Taf.

Fichtenhumus wirkt im Gegensatz zum Buchenhumus ungünstig auf höhere Pflanzen wie auf die Mikroflora des Bodens ein. Die Koniferen-Stoffwechselprodukte (ätherische Öle) bedingen dies. Die Nitrifikation verlief in den beiden Humussorten folgendermaßen:

		Buchenhumus	Fichtenhumus
100 g Humus enthielten mg Gesamtstickstoff		979,7	1250,2—1384,3
Salpeterstickstoff	zu Beginn	18,78	9,75—26,98
	nach 11 Monaten	75,12	42,2—54,91

Der Buchenhumus war also, trotz niedrigeren Gesamtstickstoffgehaltes, deutlich überlegen. Ob überhaupt im Waldhumus Nitrifikation stattfindet oder nicht, hängt offenbar sehr vom Zersetzungsgrade ab. Manche Humusproben enthalten gar keinen Salpeter. Löhnis.

Lemmermann, O und **Wichers, J. L. Verlauf der Denitrifikation in Böden bei verschiedenem Wassergehalt.** Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **41**, 1914, S. 608—625 m. 1 Kurve.

Verschiedene Erden wurden pro kg mit 5 g Dextrose und 1,518 g $NaNO_3$ versetzt, und nach verschieden hoher Sättigung der Wasserkapazität längere Zeit aufbewahrt. Die Ermittelung des Gesamtstickstoffes lehrte, daß eine fast vollständige Zerstörung des Salpeters dann eintrat, wenn die Sättigung der Wasserkapazität 75 % überschritt. Zwischen 50 und 75 % war sie am geringsten, doch fand auch noch unterhalb 50 % echte Denitrifikation (d. h. Zerstörung des Nitrats unter Abspaltung des Stickstoffes) statt.

Löhnis.

Bau, Arminius. Über die Haltbarkeit einiger Hefenenzyme. Wochenschr. f. Brauerei, **32**, 1915, S. 141—143, 151—154, 159—162, m. 1 Abb.

Verf. benutzte zu seinen Untersuchungen vier Trockenhefen vom Frohbergtypus, welche in den Jahren 1896 und 1903 bei niedrigen Temperaturen getrocknet waren, während eine der letzteren Hefen im Jahre 1908 allmählich noch auf 105° erhitzt wurde, und zwar unter Bedingungen, welche die Enzyme nicht schädigen konnten. In diesen z. T. $18^3/_4$ Jahre alten Hefen wurden folgende Enzyme nachgewiesen: Invertase, Maltase, Melibiase (diese nur bei den Unterhefen), Emulsin, Amygdalase, Karboxylase, Lipase und Endotryptase. Zu erwähnen ist, daß Karboxylase nur mittels brenztraubensauren Natriums erkannt werden konnte, dagegen nicht mit freier Brenztraubensäure. Die sonst in frischen Hefen noch vorhandenen Enzyme: Zymase, Trehalase, Katalase, Oxydase, Reduktase und Hefenlab wurden in den alten Trockenhefen nicht aufgefunden. Autoreferat.

Bau, Arminius. Über die Enzyme des Bieres. Wochenschr. f. Brauerei, **32**, 1915.

In einem untergärigen, gut abgelagerten Bier vom Pilsener Typus, welches in Norddeutschland gebraut war, wies Verf. die Enzyme: Invertase, Melibiase und Amygdalase nach. Maltase, Emulsin, Karboxylase, Lipase, Endotryptase, Katalase, Oxydase, Reduktase und Hefenlab waren nicht vorhanden. Autoreferat.

Müller-Thurgau und **A. Osterwalder. Die Bakterien im Wein und Obstwein und die dadurch verursachten Veränderungen.** Mit 3 Tafeln und einem Literaturverzeichnis. Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., Bd. 36, S. 129.

Bei normaler Kellerbehandlung findet in ganz sauren Traubensäften schon in den ersten Tagen nach der Kelterung kein Bakterienwachstum mehr statt. In milden Weinen bleiben von den Früchten stammende Bakterien erhalten und vermögen in der Folge Weinkrankheiten hervorzubringen. Bei der Kellerbehandlung ist die Übertragung der Bakterien von einem Weine in den anderen leicht möglich. Milchsäurebakterien treten bei Obstweinen, namentlich milden Birnenweinen vielfach schon während der alkoholischen Hauptgärung in großer Zahl auf, so daß neben der alkoholischen Gärung gleichzeitig eine Milchsäure- oder Mannitgärung stattfindet. Auch Bakterien, die das Zähewerden des Weines bewirken, werden öfters schon während der alkoholischen Gärung im Weine vorgefunden. Bakterien, die für die Säureabnahme der Weine verantwortlich sind, treten meist schon nach Abschluß der alkoholischen Gärung auf. In vergorenen Weinen und Obstweinen wurden von den Verf. bewegliche Bakterien nicht gefunden und auch in unvergorenen Säften sind sie nur sehr selten und betonen die Verf., daß sich die gegenteiligen Angaben Kramers auf stark faulig zersetzte Weine beziehen. Auch das Vorkommen sporenbildender Bakterien in Weinen kann als ein sehr seltenes bezeichnet werden.

Im Gegensatze zu den „Weinfehlern" sehen die Verf. als „Weinkrankheiten" „jene fortschreitenden Veränderungen an, die durch im Saft oder Weine lebende Organismen (Schimmelpilze, Sproßpilze und Bakterien) verursacht werden und bei denen Produkte entstehen, die die Beschaffenheit des Weines hinsichtlich Geruch und Geschmack oder Bekömmlichkeit ungünstig beeinflussen". So wäre z. B. der „Böckser" als Weinkrankheit, der „Schimmelgeschmack" als Weinfehler zu betrachten.

Der Milchsäurestich befällt meist Obstweine, besonders ursprünglich säurearme Birnenweine, ferner milde Traubenweine und gallisierte, stark gestreckte Weine. Er äußert sich in einem süßlich-säuerlichen, etwas kratzenden Geschmack und einem an unverdorbenes Sauerkraut erinnernden Geruch. Der milchsäurestichige Wein enthält neben viel Milchsäure auch ziemlich viel Essigsäure. Der charakteristische Geruch wird durch Ester der Milchsäure

erzeugt. Die den Milchsäurestich der Weine erzeugenden Bakterien sind zugleich auch als Erreger der „Mannitgärung“ anzusehen; doch glauben die Verf. „Milchsäurestich“ und „Mannitgärung“ auseinanderhalten zu müssen (vergl. hierzu Kossowicz, Lehrbuch der Chemie, Bakteriologie und Technologie der Nahrungs- und Genußmittel, S. 476 und 477). Die Bakterien des Milchsäurestiches treten bald als Stäbchen, bald als lange, gegliederte oder ungegliederte Fäden auf und wären als zur Gruppe der sog. langen Milchsäurebakterien gehörig zu betrachten. Bacterium acidi lactici Hueppe kommt nach den Verf. für den Milchsäurestich nicht in Betracht.

Die „Mannitgärung“ ist charakterisiert durch die Entstehung von Mannit, Milchsäure und Essigsäure aus Lävulose und den auffallend hohen Extraktgehalt der mannitkranken Weine, der sich auch geschmacklich bemerkbar macht. Die sehr allgemein gehaltene Angabe der Verf., daß Mannit weder von Hefen, noch von Bakterien weiter zersetzt wird, ist allerdings nicht zutreffend, wenn auch die Verf. für die vier von ihnen näher untersuchten Weinbakterien eine Mannitverarbeitung nicht feststellen konnten (vergl. diesbezüglich Kossowicz, Lehrbuch der Chemie, Bakteriologie und Technologie der Nahrungs- und Genußmittel, S. 476, ferner die auf das Verhalten von Hefen zu Natriumthiosulfat, bezw. zu Nitriten und Nitraten bezugnehmenden Arbeiten des Rezens. in Zeitschr. f. Gärungsphysiologie, Bd. 2, 1912 und in der Biochem. Ztschr. Bd. 67, S. 391 und 400, in denen Mannit als alleinige Kohlenstoffquelle Verwendung fand).

Das Zähe- oder Lindwerden des Weines kommt in einer stärkeren Trübung des Weines, in einer öligen Beschaffenheit, dem Fadenziehen beim Ausgießen, dem lautlosen Fließen des Weines ins Glas und in dem langsamen Aufsteigen von Gasblasen in Erscheinung. Noch nicht vollständig klargelegt sind die eigentlichen Ursachen dieser Weinkrankheit. Aus zähen Weinen wurden von verschiedenen Forschern verschiedene Bakterien isoliert (Sarcina, Diplococcus, Bac. viscosus vini, mannitbildende Bakterien usw.). Eine Verschleimung der Traubensäfte bewirken auch Schleimhefen und Dematium pullulans. Außer Kohlensäureentwicklung ist auch die Bildung von Mannit, Milchsäure und Essigsäure durch die Bakterien des zähen Weines hervorzuheben. Es ist auch vielfach möglich lindgewordene Weine in den natürlichen Zustand zu überführen.

Der „Böckser“ macht sich durch den eigenartigen Geruch des betreffenden Weines nach Schwefelwasserstoff bemerkbar, der allerdings manchmal durch andere Gerüche verdeckt werden kann. Die Schwefelwasserstoffbildung dürfte meist aus freiem Schwefel durch Weinhefe während der Gärung erfolgen, doch könnten auch Schwefelverbindungen hierfür in Betracht kommen. (Eine Schwefelwasserstoffbildung durch Hefe aus Sulfat konnte vom Referenten in mineralischen Zuckerlösungen nicht beobachtet werden, wohl aber eine solche aus Thiosulfat. Vergl. diesbezüglich Zeitschr. f.

Gärungsphysiologie, Bd. 2, 1912). Nach Müller-Thurgau und Osterwalder erscheint es nicht ausgeschlossen, daß auch im Wein wachsende Bakterien Schwefelwasserstoff aus freiem Schwefel bilden. Auch der durch Zersetzung der Hefe (Hefegeschmack) verursachte unangenehme Geruch und Geschmack wird manchmal als „Böckser" bezeichnet.

Das „Umschlagen der Weine" (la tourne) trennen die Verf. von dem ohne Mitwirkung von Bakterien entstehenden „Braunwerden" des Weines und schlagen für den Ausdruck „la casse" die Übersetzung „Brechen" vor. Französische Weinmykologen und Weinpraktiker bezeichnen das „Umschlagen" in Berücksichtigung der hierbei stattfindenden Kohlensäureentwicklung auch als „la pousse". Gegen diese Namengebung sind die Verf. deshalb, weil Kohlensäureentwicklung auch bei anderen Weinkrankheiten, wie Milchsäurestich und Mannitgärung, aber auch beim Säureabbau usw. auftreten kann. Auf Seite 138 berichten die Verfasser über einen von Pasteur untersuchten kranken Wein, den Pasteur selbst als „umgeschlagenen" Wein (vin qui a la pousse) bezeichnet hat, während Müller-Thurgau und Osterwalder diesen von Pasteur untersuchten Wein auf Grund der gegebenen Beschreibung als „milchsäurestichigen" angesehen wissen wollen. Wenn man dann noch die nachfolgende Angabe von Müller-Thurgau und Osterwalder auf Seite 326 ihrer Abhandlung mitberücksichtigt, erscheint die ablehnende kritische Erwähnung einer rein referierenden Stelle aus einem über 200 Seiten fassenden Werke nicht recht begreiflich, denn es scheinen die Franzosen doch manchmal „milchsäurestichigen" und „umgeschlagenen" Wein verwechselt zu haben, wenigstens ist dies nach den Verf. niemand geringerem als Pasteur passiert. Die Verf. sagen überdies dort wörtlich: „Ebenso zeigte ein dritter Rotwein von Mayenfeld (1909) im oberen Rheintal die Beschaffenheit eines umgeschlagenen Weines. Der Wein wurde schließlich dick-trübe, schokoladefarbig und moussierte stark. Er enthielt zahlreiche Bakterien vom Typus des „Bacterium mannitopoeum", gewissermaßen eine Reinkultur" und an anderer Stelle (S. 322), wo es sich um die Erscheinung des „Milchsäurestiches" handelt: „In fast sämtlichen dieser Fälle war das Bacterium mannitopoeum und nur ausnahmsweise das Bacterium gracile die Ursache dieser Krankheit" (also des Milchsäurestiches)! Jedenfalls erscheint also eine strenge Auseinanderhaltung des „Umschlagens" und des „Milchsäurestiches" nicht immer durchführbar, auch nicht von rein bakteriologischem Standpunkte und ein Zusammenhang beider Erscheinungen möglich. Das „Umschlagen" der Weine ist charakterisiert durch Trübung, Farbenveränderung ähnlich derjenigen beim „Braunwerden", Depotbildung und tiefgreifende Geruchs- und Geschmacksveränderung. Die umgeschlagenen Weine schmecken fade, platt, schwach, schlecht. Die von den Verf. aus schweizerischen umgeschlagenen Weinen isolierten Bakterien

stimmen in ihrem Aussehen mit den von Mazé und Pacottet und von Duclaux abgeschiedenen und abgebildeten überein (S. 141). Ein Rotwein von Hallwilersee enthielt Bact. mannitopoeum, Bact. gracile und Micrococcus variococcus h, ein Rotwein von Schaffhausen Bakterien vom Typus des Bact. mannitopoeum, dann Einzelkokken, Diplokokken und Tetraden, der schon früher erwähnte Rotwein von Mayenfeld nur Bacterium mannitopoeum (gewissermaßen als Reinkultur!). Als charakteristisch für diese Weinkrankheit werden (von verschiedenen Forschern) auch die Bildung von Propionsäure und die weitgehende Zerstörung des Weinsteins angesehen.

Das „Mäuseln“ der Weine äußert sich in einem unangenehmen Geruch nach Mäuseharn (Acetamid) und einem unangenehmen Geschmack. Verf. vertreten die Anschauung, daß das „Mäuseln“ durch Bakterientätigkeit entsteht, und zwar durch Bact. mannitopoeum hervorgebracht wird.

Verf. geben dann einen historisch-kritischen Überblick über die Arbeiten, die sich auf das „Bitterwerden der Rotweine“, den „Buttersäurestich“ und den „Säureabbau durch Bakterien und Hefen“ beziehen, während das „Kahmigwerden“ und der „Essigstich“ mit Absicht von den weiteren Darlegungen ausgenommen wurden (vergl. hierzu auch die im Jahre 1911 erschienene „Einführung in die Mykologie der Genußmittel und in die Gärungsphysiologie“ des Referenten und die im Jahre 1913 erschienene Bearbeitung der Fehler und Krankheiten des Weines durch K. Kroemer in Lafars „Handbuch der Technischen Mykologie“).

Zur Reinzüchtung und Kultur der Weinbakterien gelangen Gelatine oder Agar-Agar mit mildem säurearmem Birnensaft oder entsäuertem Traubensaft, Birnsäfte, Hefenauszug (100 g Preßhefe auf einen Liter) mit Zusatz von ca. 1 ‰ Äpfelsäure oder Weinsäure und 2—3proz. Rohrzucker, Lävulose oder Dextrose zur Anwendung.

Die Verf. haben 15 Bakterien reingezüchtet, die sie in drei Gruppen zusammengefaßt haben und zwar: 1. die Gruppe des Bact. mannitopoeum, d. s. ausgeprägte Milchsäurebakterien, die „in Gegenwart von Lävulose rasch große Mengen von Mannit bilden“, während sie die organischen Säuren weniger leicht angreifen, als die übrigen Bakterien; 2. die Gruppe des Bacterium gracile, Milchsäurebakterien, die gleichfalls Mannit bilden, im Bau aber zarter sind und kräftig Äpfelsäure und Zitronensäure zerlegen; dann 3. die Gruppe der mikrokokkenartigen Milchsäurebakterien, vertreten durch Micrococcus acidovorax und Micrococcus variococcus. Sie sind z. T. sehr kräftige Milchsäurebildner, bauen energisch Äpfelsäure ab. Die Fähigkeit der Mannitbildung geht ihnen aber ab. Die genannten Bakterien wurden nun eingehend in bezug auf ihr morphologisches, kulturelles und physiologisches Verhalten geprüft, so auf ihre Einwirkung auf Hexosen, Disaccharide und Raffinose, Pentosen, Glukoside, Mannit, Dextrin, Pepton,

Äpfelsäure, apfelsaure Salze, Weinsäure und weinsaure Salze, Bernsteinsäure, Zitronensäure, Milchsäure, Alkohol usw. Auch der Einfluß der Temperatur und des Sauerstoffzutrittes auf die vier Weinbakterienarten, ferner die Beeinflussung durch Hefe und das Verhalten der vier Bakterienarten in Weinen und Obstweinen fanden entsprechende Berücksichtigung und muß wegen der Einzelheiten der sehr verdienstvollen und interessanten Arbeit auf das Original verwiesen werden. Überraschend erscheint der Umstand, daß die vier untersuchten Bakterien weder Mannit, noch Pepton (in Hefenauszug als Grundnährlösung) zu verarbeiten vermochten, und könnte dies nach Ansicht des Referenten wohl auch mit der Art der Untersuchung (Fehlergrenzen!) und der verwendeten Nährlösung zusammenhängen. Gegen Alkohol erwies sich Bact. gracile, das bei ca. 10 Vol.-Proz. Alkohol kaum mehr zu gären vermag, am empfindlichsten, während Bact. mannitopoeum am widerstandsfähigsten (Grenze bei ca. 12 bis 13 Vol.-Proz.) war.

Es wurden dann auch andere Milchsäurebakterien und zwar solche, die für die Brauerei, Brennerei und das Molkereiwesen in Betracht kommen, und zwar Bac. Delbrücki, Saccharobacillus pastorianus var. berolinensis, Bact. casei ε, Bact. Güntheri (Bac. lactis acidi L.), Bact. acidi lactici H. und Bact. lactis aerogenes zu Vergleichszwecken auf ihr Verhalten zu entsäuertem und nicht entsäuertem Obstsaft geprüft (Anm. d. Refer.: Weitere eingehende Untersuchungen nach dieser Richtung hin und ihre Ausdehnung auf Wein und Obstwein wären jedenfalls von Interesse. Vergl. auch Kossowicz „Lehrbuch der Chemie, Bakteriologie und Technologie der Nahrungs- und Genußmittel“ S. 475). Saccharobacillus pastorianus, Bact. aerogenes, Bact. acidi lactici und Bact. Güntheri zeigten auch in nicht entsäuertem Wasserbirnsaft gute Entwicklung, Bact. Güntheri auch kräftige Milchsäurebildung, während die übrigen drei Bakterien nur wenig Milchsäure erzeugten.

Der Säureabbau, für den nach den Verf. Bacterium gracile, ferner die beiden früher genannten Mikrokokken und Micrococcus malolacticus Seifert in Betracht kommen könnten (s. S. 289 und 290), wird durch eine höhere Temperatur der Getränke bald nach der Gärung gefördert. Ob durch einen Zusatz von entsprechenden Bakterien-Reinkulturen der Säureabbau nach Wunsch geregelt werden könnte, wird erst durch weitere Versuche zu erproben sein. Den Säureabbau vermag man durch kühle Lagerung der Getränke, frühzeitigen Abzug vom Hefetrub, Zuführung von Kaliummetasulfit, Einbrennen mit Schwefel und Säurezusatz einzuschränken. Bezüglich des Säurezusatzes erscheint am entsprechendsten (wo dies gesetzlich erlaubt ist) ein solcher von Weinsäure. Auch Gerbstoff zeigt eine hemmende Wirkung auf den Säureabbau. Das Schönen erscheint hingegen nicht geeignet.

Zur Verhinderung des Milchsäurestiches (und wohl auch verwandter Krankheiten) kommen höherer Säuregehalt des Trauben- bezw. Obstsaftes,

Anwendung einer geeigneten Weinhefe, niedere Gärtemperatur, rechtzeitiger Abzug von der Hefe, Kühlhaltung der abgezogenen Weine, höherer Gerbstoffgehalt und erforderlichenfalls Zufuhr von schwefliger Säure in Betracht.

Die hier nur kurz skizzierte umfangreiche Abhandlung von Müller-Thurgau und Osterwalder bildet einen sehr wertvollen Beitrag zur Erweiterung unserer Kenntnisse auf dem Gebiete der noch wenig erforschten Weinmykologie. Kossowicz.

Moritz, E. R. Über eine Torulaart, welche in Bier Ananasgeschmack erzeugt. Allg. Brauer- und Hopfenzeitung **54**, 1914, S. 2744. — Journ. of the Inst. of Brewing **20**, 1914, No. 5.

Verfasser fiel des öfteren bei Gärungen ein deutlicher Geruch nach Ananas auf, dem gewöhnlich ein ähnlicher Geschmack im Bier folgte. Die Krankheit beginnt leicht, nimmt aber zusehends und unliebsamerweise überhand, wenn nicht Gegenmaßregeln ergriffen werden. Geruch und Geschmack wird immer mehr ananasähnlich und erinnert schließlich an Honig oder auch an Rohrzucker. Verfasser fand die Krankheit am meisten bei den Mild-Ales. Es gelang, den Erreger der Krankheit aus einer Kühlschiffwürze zu isolieren in Gestalt eines nicht Sporen bildenden Organismus, der anscheinend nicht zur Klasse der Saccharomyzeten gehört und von Moritz als Ananastorula bezeichnet wurde. Die Größe der Zellen beträgt durchschnittlich 7 μ in der Länge und $2^1/_2$ μ in der Breite. Gärversuche mit dem Organismus zeigten, daß er wie viele andere wilde Brauereihefen augenscheinlich ein großer Erzeuger, aber nur ein sehr kleiner Vergärer ist. Bei der Untersuchung von Konservierungsmitteln (Salizylsäure, schwefligsaurer Kalk, doppeltschwefligsaurer Kalk) zeigte sich, daß der Organismus durch sie nicht wesentlich beeinflußt wurde. Durch Vermehrung der Hopfengabe gelang es, den Ananasgeruch bzw. -geschmack etwas zurückzudrängen. In Rohrzucker-, Laktose- und Maltoselösungen fand keine Bildung von Alkohol und Ananasgeruch statt, die Vermehrung war sehr kümmerlich. Dagegen war das Wachstum in Dextroselösung beträchtlich, dort wurde auch Alkohol und Ananasgeruch gebildet. Im Betrieb ist nicht viel gegen den Organismus zu machen. Am sichersten ist die Verhütung einer Infektion. Verfasser fand als Infektionsquelle faulende Treber, Malzstaub und Mälzereiverunreinigungen. R. Heuß.